

Aus dem Institut für Angewandte Physiologie in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. F. J. Haberich

Die Wirkung unkonjugierter Gallensäuren auf die Wasser- und Elektrolytaborption im proximalen Jejunum der wachen Ratte — Perfusionsversuche in vivo*)

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität

vorgelegt von
Heribert Konder
aus Trier

Marburg 1977

*) Aus dem Sonderforschungsbereich 122
»Adaptation und Rehabilitation« der Deutschen Forschungsgemeinschaft



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Angewandte Physiologie in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. F. J. Haberich

**Die Wirkung unkonjugierter Gallensäuren
auf die Wasser- und Elektrolytaborption
im proximalen Jejunum der wachen Ratte —
Perfusionsversuche in vivo*)**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität

vorgelegt von
Heribert Konder
aus Trier

Marburg 1977

*) Aus dem Sonderforschungsbereich 122
»Adaptation und Rehabilitation« der Deutschen Forschungsgemeinschaft

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 16.12. 1977
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan : Prof. Dr. med. F. Neurath
Referent : Prof. Dr. med. R. Dennhardt
Correferent : Prof. Dr. med. F. J. Haberich
Tag der Prüfung : 16. 12. 1977



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
Methodik	3
Kritik der Methodik	20
Ergebnisse	25
I. Verhalten des Netto-Natrium-Flusses	25
II. Verhalten des Netto-Volumen-Flusses	27
III. Verhalten des Netto-Chlorid-Flusses	29
IV. Verhalten des Netto-Kalium-Flusses	31
V. Verhalten des Netto-Flusses an osm- motisch wirksamer Substanz	33
Diskussion	39
Zusammenfassung	51
Literaturverzeichnis	52

Einleitung

=====

Die Bedeutung der Gallensäuren, insbesondere der Konjugate, für die Fettresorption im Dünndarm ist hinlänglich bekannt. Häufig wurde berichtet, daß konjugierte Gallensäuren auch den Netto-Volumen- und Netto-Elektrolyt-Transport im Dünndarm beeinflussen, wobei mittlerweile angenommen werden kann, daß diese Effekte u.U. auf Verunreinigungen mit unkonjugierten Gallensäuren zurückzuführen sind (Pope, 1966).

Unkonjugierte Gallensäuren haben sowohl unter physiologischen wie insbesondere auch pathophysiologischen Bedingungen einen erheblichen Einfluß auf die Resorptionvorgänge am Dünndarm. Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Konzentrationen der unkonjugierten Gallensäuren entsprechen den als physiologisch ermittelten (Forth, 1966).

Bei der Durchsicht der Literatur fällt auf, daß die Ergebnisse der Wirkung von unkonjugierten Gallensäuren sehr stark variieren; dies ist zu einem wesentlichen Teil durch unterschiedliche Versuchsmodelle bedingt. Die physikalisch-chemischen Gegebenheiten im oberen Dünndarm sind dabei selten berücksichtigt worden. Deshalb wurden in den eigenen Versuchen ungepufferte Lösungen verwendet, damit die normalen pH-Verhältnisse im Jejunum erhalten bleiben.

Um dies zu erreichen, wurde ein tierexperimentelles Modell verwendet, daß es gestattet, die Untersuchungen unter weitgehend physiologischen Bedingungen durchzuführen. Da eine Allgemeinnarkose wie auch das operative Trauma Auswirkungen auf die verschiedensten Funktionssysteme des Organismus haben (Bonjour et al. 1970), sind in der vorliegenden Arbeit die Versuche in vivo an der wachen Ratte durchgeführt worden.

Die Wirkungen von Anästhetika auf die Organe des Splanchnikusgebietes in Durchblutung und Funktion sind bekannt (White et al. 1975, Gelman 1975, Hempel et al. 1975), ebenso der Einfluß auf die Niere sowohl bezüglich der glomerulären Filtration wie auch der tubulären Transportmechanismen (Kennedy et

al. 1972), das Herz- Kreislauf- System (Benthe et al. 1973). Auch die Beeinflussung des Energiestoffwechsels (Biebuyk 1973) wie auch der Zellmembranen und subzellulären Strukturen (Andersen et al. 1973) ist beschrieben.

Diese Argumente wie auch die Auswirkungen des Operationstraumas auf die zu untersuchenden Transportphänomene des Dünndarms waren Anlaß, die Untersuchungen in vivo an nicht narkotisierten Tieren stets einige Tage postoperativ durchzuführen.

Methodik

=====

1. Tiere

Für die Versuche werden Albinoratten vom Stamm Wistar II aus eigener Zucht verwendet ($n=108$). Das Operationsgewicht beträgt 245 ± 23 g. Die Tiere ernähren sich präoperativ mit Wasser und Futter (Fa. Altromin) ad libitum und werden in Makrolonkäfigen in einem klimatisierten Raum ($20 - 22^{\circ}\text{C}$, $40 - 50$ % rel.-Luftfeuchtigkeit) gehalten.

2. Operationstechnik

(s. a. Haberich, Herzer, Aziz, Dennhardt 1968)

Ziel der Operation ist, die funktionelle, jederzeit reversible Isolierung eines 10 cm langen Darmsegmentes zu ermöglichen, an dem zu einem späteren Zeitpunkt mit Hilfe einer in-vivo-Perfusion des Darmes an der wachen Ratte das Absorptionsverhalten untersucht werden kann (Abb. 1), (Abb. 2).

Die Operationen werden in Äthertropfnarkose durchgeführt (Äther pro narkosi, Fa. Höchst). Präoperativ wird das Abdomen der Tiere rasiert. Anschließend werden die Ratten auf einer Wärmeplatte fixiert. Dadurch wird ein Auskühlen der Tiere unter der Operation vermieden. Die Wärmeplatte selbst ist elektrisch leitend und mit Anschlüssen für einen Thermokauter (Radiotom der Fa. Siemens) versehen. Das Operationsfeld wird mit Alkohol (70 %) gereinigt und möglichst keimfrei gemacht. Das Abdomen der Tiere wird durch eine mediane Laparotomie eröffnet und entsprechend abgedeckt.

Das proximale Jejunum wird aufgesucht und außerhalb des Bauchraumes ausgebreitet; das Darmkonvolut wird gegen Austrocknung mit feuchter Gaze abgedeckt (physiol. NaCl- Lösung von 37°C).

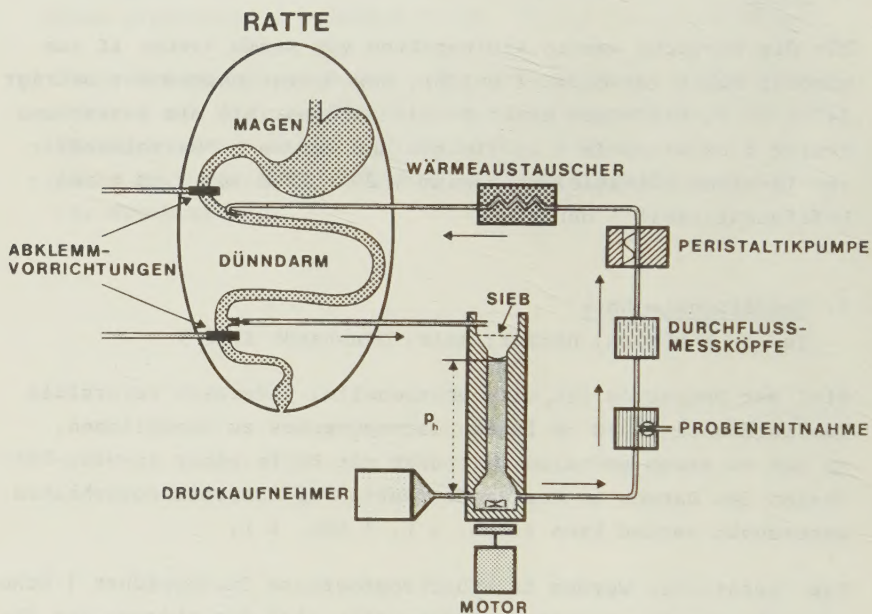


Abb. 1 : schematische Darstellung der in - vivo -
Perfusionstechnik am Dünndarm der wachen
Ratte (geschlossenes System), Erläuterungen
s. Text

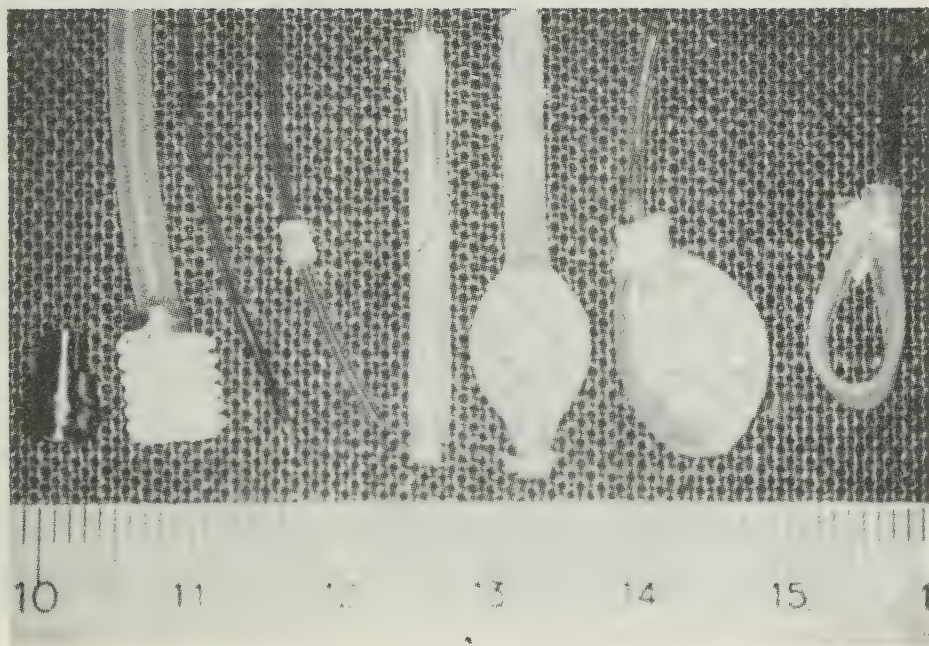


Abb. 2 : Darstellung von (links nach rechts) V2A- Übergangsstück, abführende " Anastomose " mit Dacron- gefäßprothese, Gefäßkatheter, zuführender Darm- katheter, Abklemmungen (Erläuterungen s. Text).

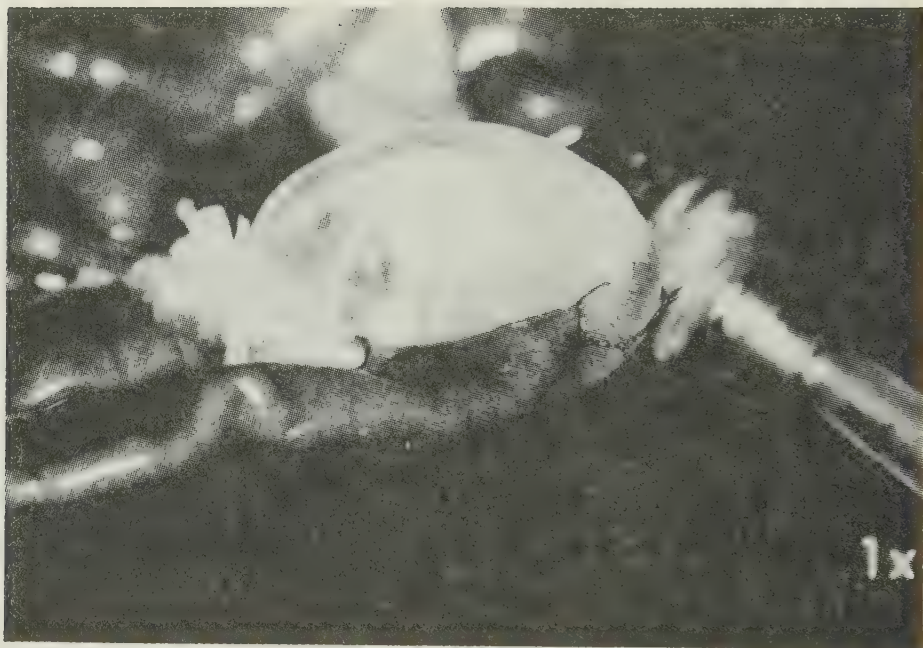


Abb. 3 : aufgeblasene distale Abklemmung mit ausführender
Prothese in situ

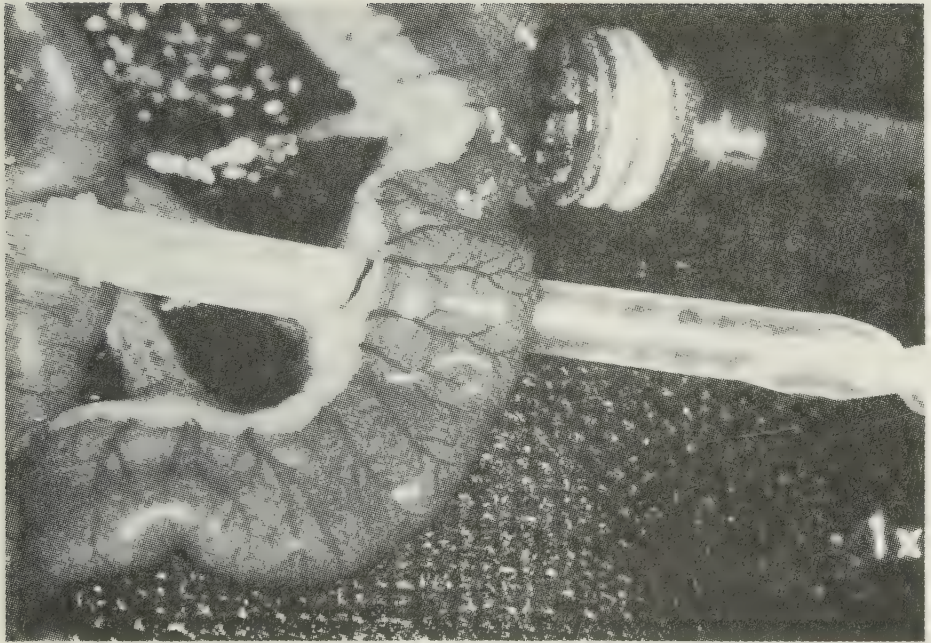


Abb. 4a : Lage der distalen Abklemmung und ausführenden
Prothese in situ

Es werden nun zunächst die beiden Abklemmvorrichtungen angebracht. Diese bestehen aus einem 1,5 - 2 cm langen Silikonkautschukschlauch, der über ein mit Plastikkleber abgedichtetes Zwischenstück mit einem dünnen PVC-Schlauch (P 2) durch Ligierung verbunden ist. Das freie Ende des Silikonkautschukschlauches wird ebenfalls ligiert. Mit einer Tuberkulinspritze wird vorsichtig Wasser in den Silikonschlauch gespritzt und so eine Hälfte des Kautschukschlauches überdehnt. So entsteht in dieser Schlauchhälfte ein mit Wasser gefülltes elastisches Kissen (Abb. 3). Mit dieser Vorrichtung, die um den Darm gelegt wird, kann das Darmlumen schonend und jederzeit reversibel durch Kompression verschlossen werden.

Es wird zuerst eine Abklemmvorrichtung distal des Treitzschen Bandes am proximalen Jejunum angebracht, indem man an einer gefäßfreien Stelle des Mesenteriums den Silikonkautschukschlauch um das Darmrohr legt und mit einem Faden zu einer Manschette verbindet (s. Abb. 4). Um ein Wandern der Manschette und dadurch mögliche Passagebehinderungen bzw. Gefäßabklemmungen im Bereich des Mesenterialansatzes zu verhindern, wird diese mit einer feinen serösen Naht am Darm fixiert (Supramid 6/o Fa. Braun, Melsungen). In 10 cm Abstand von dieser Manschette wird die distale Abklemmung ebenso angebracht. In situ werden nun die individuell benötigten Drucke zur Abdichtung des Darmlumens für die jeweiligen Manschetten durch Einspritzen von Flüssigkeit bestimmt (ca. 0,4 - 0,6 ml).

Anschließend wird der zuführende Katheter unmittelbar distal der proximalen Abklemmung in das Darmlumen eingeführt. Er besteht aus einem dünnen PVC-Schlauch (P 2), der am zugespitzten Ende eine schmale "Manschette" (s. Abb. 2) aus einem fest aufsitzen den kurzen Stück PVC-Schlauch trägt, um ein späteres Herausgleiten des Katheters aus dem Darmlumen zu verhindern. Der Darm wird mit einer feinen Nadel perforiert, der Katheter mit seiner distalwärts gerichteten, angespitzten Öffnung in das Darmlumen bis zur "Manschette" eingeführt und mit einer Ligatur hinter der "Manschette" an der Serosa befestigt.

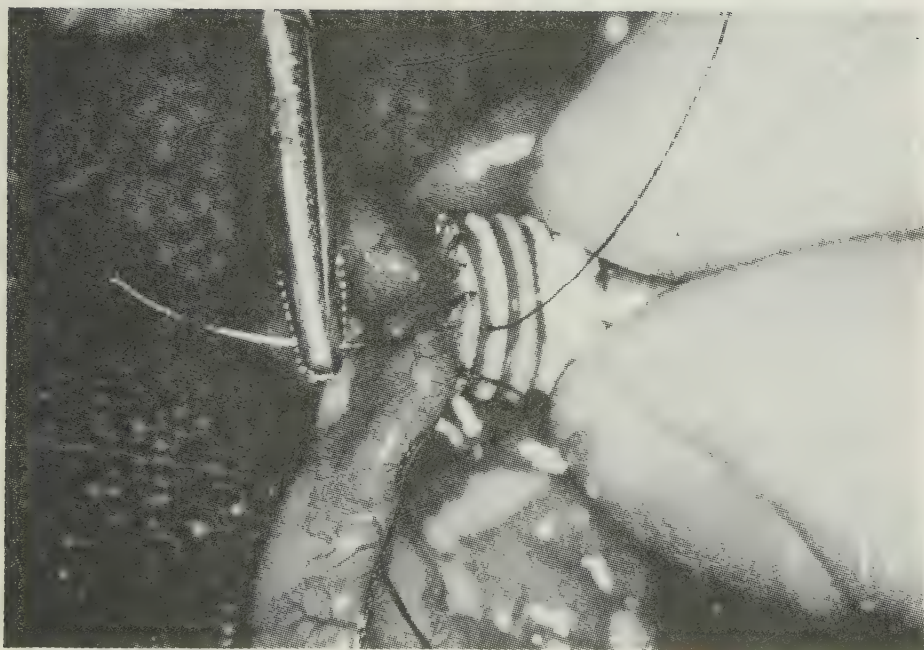


Abb. 4b : seröse Naht des ausführenden Katheters
in Art einer End-zu-Seit-Anastomose



Abb. 5 : kollabierte Abklemmung in situ;
die Darmpassage kann ungehindert erfolgen

Der aborale Katheter besteht aus einem kurzen Stück Gefäßprothese $\varnothing$ 5 mm (DeBakey Dacron, Fa. Integra United States Catheter and Instrument Corporation, Box 787 Glens Falls New York 12801), die auf einem Übergangsstück aus V2A-Stahl mit Gewinde (eigene Herstellung) sitzt (Abb. 2). Von diesem Übergangsstück geht ein ca. 6 cm langer Silikonkautschukschlauch ($\varnothing$ 3 mm) (Fa. Huth) ab.

Der Darm wird unmittelbar vor der distalen Abklemmung mit dem Thermokauter ungefähr 6 - 8 mm gegenüber dem Mesenterialansatz in Längsrichtung eröffnet. Ingesta werden vorsichtig aus der Öffnung mit einer Pinzette entfernt. Die Prothese wird nun an den beiden Enden der Darmincision in Art einer End-zu-Seit-Anastomose serös angenäht (Nahtmaterial: Supramid 6/0 Fa. Braun, Melsungen oder atraumatisches Nahtmaterial Fa. Ethicon) und anschließend mit einer fortlaufenden serösen Naht an den Darm genäht. Nach Einnähung der Prothese wird durch den ausführenden Schlauch physiologische Kochsalzlösung (37° C) in das Darmlumen eingespritzt, um eine eventuelle Nahtinsuffizienz an der Prothese noch in situ aufdecken und mit einer Einzelnaht abdichten zu können. Während der Operation wird das Darmkonvolut mit warmer physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtet (Abb. 4b).

Die Schläuche werden mit Ausnahme des abführenden Schlauches auf dem Rücken des Tieres nach außen geleitet. Der abführende Katheter wird an der lateralen Bauchwand links herausgeführt. Der ausführende Schlauch wird unter geringem Druck mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt und mit einem Stöpsel verschlossen. Die Abklemmvorrichtungen werden durch Anlegen eines Unterdruckes zum Kollabieren gebracht, um die Darmpassage nicht zu behindern (s. Abb.5). Anschließend werden die Schlauchenden luftdicht zugechweißt.

Nun wird der Darm in seine ursprüngliche Position zurückverlagert und Peritoneum und Bauchmuskulatur mit einer fortlaufenden Katgutnaht (3/0 USP Fa. Braun, Melsungen) verschlossen. Zur anschließenden fortlaufenden Bauchhautnaht wird Seide bzw. Synthofil 2/0 USP (Fa. Braun, Melsungen) verwendet. Über die Hautnaht wird

ein Plastikfilm aufgetragen (Nobecutan Spray, Bastian Werk, München) und über Naht, Rückenöffnungen und Schläuche werden Klebeverbände angebracht. Damit die Schläuche durch die Tiere selbst nicht abgenagt werden können, werden sie auf dem Rücken durch einen kleinen Metallbügel geschützt.

Zur Vermeidung von bakteriell entzündlichen Verwachsungen an Abklemmungen, Katheter und Prothese wird dort Ampicillin in die Bauchfellhöhle instilliert. Die Operationsdauer betrug ca. 60 - 90 Minuten. Postoperativ werden die Tiere gewogen, Gewicht, Operationsdauer und Ätherverbrauch notiert und die Tiere in ihren Makrolon-Käfig zurückgesetzt. In den ersten postoperativen Tagen erhalten die Tiere schlackenarmes Futter (z.B. Haferflocken) sowie Wasser und Glukose-Lösung ad libitum.

3. Anordnung und Durchführung der Versuche

Die Versuche werden frühestens am dritten postoperativen Tag durchgeführt. Dazu werden die Tiere in kurzem Ätherrausch von den Verbänden befreit, die die Schläuche bedecken, und in einen röhrenförmigen Plastikbehälter gesetzt, der ihre Bewegungsfreiheit einschränkt. Der Behälter ist durchsichtig, enthält ein abnehmbares Auffanggefäß für Urin und Kot; an seiner Oberseite befinden sich Öffnungen, durch die die Schläuche und Katheter nach außen geleitet werden können.

Ca. 60 min. nach dieser Vorbereitung kann mit den Versuchen begonnen werden. Nach dieser Zeit sind die Ätherwirkungen mit Sicherheit vorüber (Kontrolle z.B. durch Registrierung der Diurese). Nach Öffnung des zuführenden und abfließenden Katheters werden eventuelle Speisereste aus dem Darmlumen unter geringem Druck durch Einspritzen von 0,9% Kochsalzlösung (37°C) herausgespült, bis die ausfließende Flüssigkeit klar und bei Druck auf den Spritzenkolben kein Widerstand feststellbar ist.

Nun werden die Abklemmvorrichtungen mit den bekannten Volumina gefüllt. Nochmals wird der Darm für einige Minuten mit physiologischer Kochsalzlösung durchspült, um letzte Speisereste zu entfernen.

Anschließend wird das Tier an die Versuchsanordnung angeschlossen und der Darm ca. 10 min. mit der Versuchslösung im "offenen System" (Lit. s. Haberich et al. 1968) bis zur Erreichung eines "steady state" durchgespült. Zeigen sich hierbei keine Auffälligkeiten, so wird jetzt der Versuch im "geschlossenen System" durchgeführt.

Die Versuchsanordnung im "geschlossenen System" (s. Abb.1) besteht aus einer Bürette, in die die aus dem Darm ausfließende Flüssigkeit über ein Sieb tropft. Um eine gleichmäßige Konzentration der gelösten Stoffe im Bürettenvolumen zu erhalten, wird die Lösung durch einen Rührmotor mit einem Rührstäbchen ständig gemischt. Eine Peristaltikpumpe (Peristaltic pump, Modell 1201 Harvard Apparatus Co. Inc. Millis., Mass., U.S.A.) saugt die Flüssigkeit aus der Bürette an und drückt sie mit einer Perfusionsgeschwindigkeit von 1,4-1,8 ml/min. in den Darm zurück. Der intraluminaler Druck schwankt dabei zwischen 6-12 cm H₂O (Dennhardt und Haberich, 1971). Durch einen Wärmeaustauscher (Ultra-Thermostat, Fa. Haake, Berlin) wird die Flüssigkeit im System unmittelbar vor Eintritt in das Tier auf Körpertemperatur gebracht. Volumenverschiebungen werden als hydrostatische Druckänderungen mit einem Druckaufnehmer (Typ 23 Db, Statham-Element, Fa. Hato Rey, Puerto Rico, bzw. Hewlett-Packard) am Boden der Bürette gemessen und über einen Trägerfrequenzverstärker (Sanborn 350-1100 C, Hewlett-Packard) auf einem Kompensationsschreiber (1-Kanal Potentiometerschreiber, Fa. Servogor; Multi-Pen Recorder, Fa. Rikadenki) fortlaufend registriert.

Es wurde stets darauf geachtet, daß die Temperatur der einfließenden Lösung, die Perfusionsgeschwindigkeit und der intraluminaler Druck konstant waren (physiologischer Druck im Darm 8-10 cm H₂O). Zum Einfluß des intraluminalen Drucks auf die Wasserresorption am Dünndarm wacher Ratten s. Dennhardt und Haberich 1971. Um Schwankungen durch die circadiane Rhythmik der Tiere

möglichst auszuschalten, erfolgte die Durchführung der Versuche zu identischen Tageszeiten.

An der Bürette befindet sich eine Eichmarke, bis zu der das gesamte Perfusionssystem vor Beginn der Versuche aufgefüllt wird. Das Ausgangsvolumen im Versuch einschließlich Darm beträgt in der Regel 13 ml. Während der Versuche werden die Netto-Volumen-Änderungen fortlaufend über den Schreiber registriert; das System wird im Anschluß an die Versuche durch Zugabe definierter Volumina geeicht. Die Versuchszeit beträgt in der Regel 60 Minuten.

Im Anschluß an den jeweiligen Versuch werden aus den Endvolumina die Elektrolyt-Konzentrationen sowie die Osmolalität bestimmt.

Eine regelmäßige punktuelle Analyse der Elektrolytkonzentrationen bzw. der Osmolalitäten erübrigt sich, da sich die jeweiligen Konzentrationen während des gewählten Versuchszeitraums praktisch linear verändern.

Der Versuchsablauf selbst gliedert sich in 3 Teile (3 x 60 min.): Zuerst erfolgt ein Resorptionsversuch (60 min.) ohne Zugabe von Gallensäuren in die Perfusionsflüssigkeit. Anschließend wird der Darm 10 min. mit der Lösung unter Zugabe von Cholat bzw. Desoxycholat in den weiter unten angegebenen Konzentrationen im offenen System perfundiert, bis sich ein Ausgleich eingestellt hat. Die dabei aus dem Darm tropfende Flüssigkeit wird verworfen. Sodann erfolgt die weitere Perfusion 60 min. im geschlossenen System unter Registrierung und Bestimmung der genannten Parameter.

Nach dem Versuch mit Gallensäuren wird der Darm des Tieres 10 min. mit physiologischer Kochsalzlösung durchspült und anschließend 10 min. im offenen System mit der gallensäurefreien Lösung perfundiert. Darauf folgt für 60 min. ein erneuter Resorptionsversuch ohne Gallensäuren. Die üblichen Registrierungen und Bestimmungen werden durchgeführt.

Während des gesamten dreigliedrigen Versuchsablaufs bleiben die Abklemmungen geschlossen.

Sofort nach Beendigung der Versuche wird das Tier aus seinem Versuchskäfig befreit, die Abklemmungen werden entleert, die Schläuche verschlossen, das Tier in kurzem Ätherrausch verbunden und wieder in seinen Laufkäfig gesetzt.

Am gleichen Tier wird am selben Tag nicht mehr als eine Versuchsserie durchgeführt. Jedoch kann dasselbe Tier in den darauffolgenden Tagen erneut in den Versuch genommen werden.

Versuche fanden nur dann in der Auswertung Verwendung, wenn das Tier am Tag nach dem Versuch keine Anzeichen eines Ileus zeigte.

Um eine möglichst exakte Wiederholbarkeit und einen Vergleich der Ergebnisse zu ermöglichen, wurde auf Gleichheit der Versuchsbedingungen streng geachtet. Die oben beschriebenen Zeitabläufe der Versuche waren jeweils bei allen Versuchen gleich.

4. Versuchslösungen

Es werden hypotone glukosefreie Elektrolytlösungen verwendet, deren Zusammensetzung in allen Versuchen gleich ist. Je nach Versuchsserie wird diesen Lösungen eine definierte Menge an Gallensäuren zugesetzt.

a) Normallösung (in den jeweiligen Kontrollversuchen)

Zusammensetzung: 120 mVal/l Natrium (als NaCl)
5 mVal/l Kalium (als KCl)
Osmolalität 220 mosm/kg

Durch die Verwendung einer hypotonen Elektrolytlösung wird ein Netto-Fluß vom Darmlumen zur serösen Seite erzeugt, um die Wirkung bzw. Restwirkung der Gallensäuren auf die Resorption deutlicher demonstrieren zu können.

b) Lösung mit freien Gallensäuren

Zusammensetzung wie unter a)

zusätzlich: Cholat: $2 \times 10^{-3} \text{ Mol/l} \cong 0,8172 \text{ g/l}$

$5 \times 10^{-3} \text{ Mol/l} \cong 2,0429 \text{ g/l}$

Desoxycholatl: $5 \times 10^{-4} \text{ Mol/l} \cong 0,1963 \text{ g/l}$

$1 \times 10^{-3} \text{ Mol/l} \cong 0,3926 \text{ g/l}$

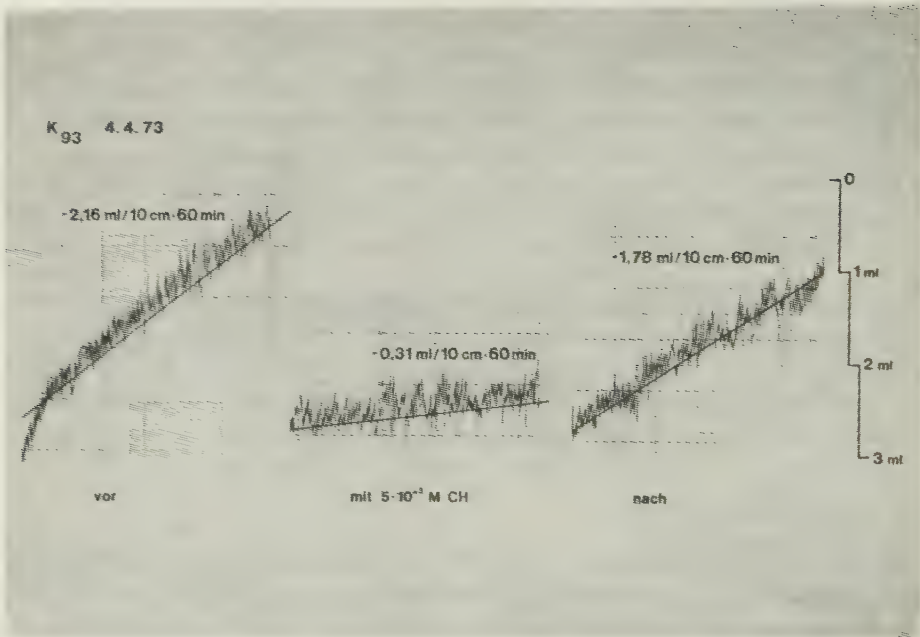


Abb. 6 : Originalregistrierung des Netto-Volumen-Flusses

Originalregistrierung eines dreigliedrigen Versuchsablaufes vor, mit und nach der Einwirkung von 5×10^{-3} M Cholat. Die Einzelversuchsdauer beträgt 60 min. Vor dem jeweiligen Perfusionsabschnitt erfolgt eine 10 -minütige Perfusion im "offenen System". Ordinate : Volumenresorption; Eichung in ml - Stufen.

Beachte die durch Darmperistaltik hervorgerufenen Druckschwankungen. Weitere Erläuterungen im Text.

Cholsäure und Desoxycholsäure wurden von Fa. Merck, Darmstadt, bezogen. Die freien Säuren werden als Natriumsalze in Lösung gebracht. Zu diesem Zweck werden sie mit 1 N NaOH umtitriert und anschließend mit HCl auf pH 7,4 eingestellt. Die benötigte Menge an Na^+ wird bei der Herstellung der Gesamtlösung berücksichtigt, damit Elektrolytgehalt und Osmolalität der Gallensäure-freien und Gallensäure-haltigen Perfusionslösung übereinstimmen. Die Reinheit der Gallensäuren wird gaschromatographisch kontrolliert (Gaschromatograph, Fractovap Mod. Gl., Fa. Carlo Erba).

5. Bestimmungsmethoden

Bestimmt werden die Netto- Flüsse pro 60 min, bezogen auf eine Darmlänge von 10 cm. Ausgangsvolumen und Ausgangskonzentration der Elektrolyte sind in allen Versuchen gleich.

Mit Resorption wird der blutwärts, mit Sekretion der darmlumenwärts gerichtete Nettofluß von Wasser und Elektrolyten bezeichnet, wobei der Nettofluß stets die Resultante zweier entgegengesetzt gerichteter unidirektionaler Flüsse ist.

Der Netto- Volumenfluß (ml/10 cm x 60 min.) wird als hydrostatische Druckdifferenz in der Bürette direkt über den Schreiber aus der linearen Abnahme bzw. Zunahme der Druckkurven bestimmt und im Anschluß an die jeweilige Versuchsserie mit einer Eichung (s. o.) verglichen (s. Abb. 6).

Die Probeentnahme erfolgte in ein Plastikgefäß, daß mit einer Kunststoffolie verschlossen wurde (Parafilm). Die Proben wurden möglichst unmittelbar nach Beendigung der Versuche gemessen. War dies nicht möglich, wurden die verschlossenen Gefäße im Kühlschrank aufbewahrt.

Der Netto-Elektrolyt-Fluß bzw. Netto-Fluß an osmotisch wirksamer Substanzmenge ergibt sich aus der zeitlichen Konzentrationsdifferenz und den zugehörigen Volumenverschiebungen ($\mu\text{val}/10 \text{ cm} \times 60 \text{ min.}$) bzw. $\mu\text{osm}/10 \text{ cm} \times 60 \text{ min.}$).

Die Na^+ - und K^+ -Konzentrationsmessungen werden simultan mit einem Flammenphotometer gegen einen internen Lithiumstandard (Flame photometer Modell 143, Instrumentation Laboratory Inc., Boston, Mass., U.S.A.) durchgeführt. Hierzu werden 10 μl Probenvolumen mit 2 ml einer 15 mVal/l Lithiumchlorid enthaltenden Lösung versetzt. Die Bestimmungen werden als 6-fach Bestimmungen durchgeführt.

Die Osmolalität wird in einem elektronischen Halbmikroosmometer (Type M, Fa. Knauer, Berlin) über Gefrierpunktserniedrigung bestimmt. Probenvolumen 50 μl (kryoskopische Methode).

Chlorid wird coulometrisch mit einem Chlor-o-counter (Fa. Marius) bestimmt.

Zusammensetzung der Bestimmungslösung:

20 ml Basislösung
1 ml Gelatinelösung
0,1ml Standardlösung bzw. Probenvolumen

Basislösung : 10 % Essigsäure
0,1N Salpetersäure

Gelatinelösung : 600 mg Gelatine (album)
(auf 100 ml) 10 mg Thymol
10 mg Thymolblau

Standard : 100 mVal/l (als NaCl/KCl)

6. Auswertungsmethoden

Die Netto-Volumen- bzw. Netto-Elektrolyt-Flüsse werden als Versuchspaare jeweils getrennt in einem gemeinsamen Diagramm dargestellt.

Die statistische Auswertung innerhalb einer Netto-Fluß-Gruppe erfolgt nach Prüfung der Normalverteilung als Mittelwertsvergleich mit dem t- Test für verbundene Stichproben (s.Sachs). Dies war

aus folgenden Gründen möglich: Da sich zum einen innerhalb eines dreigliedrigen Versuchsablaufes die Versuchsbedingungen nicht änderten und mögliche Störfaktoren ausgeschaltet bzw. konstant waren und zum anderen der jeweilige Einzelversuch an ein und demselben Tier stattfand, konnten die ermittelten Ergebnisse als Versuchspaare aufgefaßt werden. Ferner zeigen die Ergebnisse eine gute Reproduzierbarkeit. Die obere Signifikanzschranke betrug 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit bei zweiseitiger Prüfung. Der statistische Vergleich zwischen den Netto-Fluß-Gruppen bei Versuchsserien mit unterschiedlichen Gallensäurekonzentrationen erfolgte über den Multiplen-t-Test bzw. den t-Test bei gegebenem Stichprobenumfang, Mittelwert und Standardabweichung. Auch hier betrug die obere Signifikanzschranke 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit bei zweiseitiger Prüfung.

Die Untersuchung auf Vorliegen eines gleichsinnigen, abhängigen Verhaltens zweier Netto-Flüsse untereinander erfolgte über die Prüfung von Korrelation und Regression (obere Signifikanzschranke 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit bei 2-seitiger Prüfung).

Als Hilfsmittel für die statistische Auswertung wurde ein elektronischer Tischrechner verwendet (Wang 720 C).

Kritik der Methodik

Während am menschlichen Darm in-vitro Versuche nur schwer und selten durchführbar sind, werden solche Versuche am Tier häufig durchgeführt. Eine oft verwendete in-vivo-Methode für Untersuchungen am menschlichen Darm ist die Perfusion mit der zwei-lumigen Sonde (Fordtran, 1962, 1966, 1969) und mit der drei-lumigen Sonde (Bloch, 1971).

Bei in-vitro Untersuchungen werden isolierte, umgestülpte Darmschlingen (everted sacs) bzw. isolierte Schleimhaut verwendet. Dabei bietet sich z. T. die Möglichkeit zur isolierten Betrachtung der für aktiven und passiven Transport vieler Substanzen maßgebenden Mukosazellen an.

Da aber für solche Versuche die Darmanteile aus ihrem normalen Verband gelöst werden müssen und somit insbesondere Gefäß-, Lymph- und nervöse Versorgung ausfallen, ist ihre physiologische Aussagekraft beschränkt. Dies hat sich gerade auch in letzter Zeit beim Vergleich von in-vitro-Ergebnissen mit Resultaten aus in-vivo-Versuchen gezeigt, so daß die Übertragbarkeit von in-vitro-Versuchsergebnissen auf physiologische Aussagen nur bedingt und in speziellen Bereichen möglich ist.

Auch für in-vivo Versuche gibt es mittlerweile eine Fülle von Methoden (s.a. Parsons, 1968). Während hierbei versucht wird, im normalen anatomischen Verband physiologische Parameter zu ermitteln, ergeben sich bei diesen Versuchen dennoch eine Anzahl von Schwierigkeiten. Zum einen erfolgen solche Versuche in der Regel unter Narkose des Tieres, zum anderen wird bei dem Tier meist eine irreversible, am selben Tier nicht reproduzierbare Isolierung bestimmter Darmabschnitte durchgeführt.

Diese Einschränkungen der Aussagekraft werden mit der oben beschriebenen und hier angewandten Methode weitgehend ausgeschaltet, indem es möglich ist, an jedem beliebigen Darmsegment eine

vorübergehende, funktionelle, reversible und wiederholbare Isolierung des zu untersuchenden Darmabschnittes zu erreichen. Die Versuche können am selben Tier z. T. mehrfach wiederholt werden.

Die Dauer der Abklemmung des Darmes hatte während der Versuchsdauer keinen erkennbaren Einfluß auf die normalen Funktionsabläufe des Darmes wie Resorption und Motorik. Peristaltische Wellen des Darmes liefen normal ab (s. a. Originalregistrierung Abb. 6).

Der Einfluß einer Narkose mit ihrer Wirkung auf humorale und nervöse Regulationsmechanismen im Organismus sowie das akute abdominelle Operationstrauma (s. a. Dennhardt, Haberich, 1972) sind in ihren Auswirkungen auf ein vernachlässigbares Minimum reduziert. Durch die beschriebenen Beurteilungskriterien vor, während und nach einem Versuch werden schließlich mögliche Störquellen weitgehend berücksichtigt und beseitigt.

Des Öfteren konnten Versuche wegen technischer Mängel nicht verwendet werden.

Hauptursachen waren dabei :

1. Nahtinsuffizienz an der Prothese:

Zeichen : Registrierkurve verliert kontinuierlich ihre Linearität und fällt ab (Versuch wird abgebrochen).

2. Abklemmungen sind undicht (Versuch wird abgebrochen).

a. Obere Abklemmung: Zeichen: Das Volumen im Perfusionssystem nimmt zu und die ausfließende Flüssigkeit verfärbt sich mit Gallenfarbstoffen oder Speisresten. Der Versuch, erneut Flüssigkeit in die Abklemmung einzuspritzen, zeigt fehlenden Gegendruck.

b. Untere Abklemmung: Zeichen: Die Kurve fällt kontinuierlich, nicht linear und überproportional ab, d.h. das Volumen im Perfusionssystem nimmt ab (Prüfung wie bei a.).

Eine Operationsstatistik zeigt, daß von 108 operierten Tieren 30% erfolgreich in den Versuch genommen werden konnten. Von diesen 30% konnte bei 50% mehrfach eine Versuchsserie an aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt werden.

Die 70% Verlust ergeben sich zum einen aus den oben angeführten Gründen, die zur Tötung der Tiere führten, weiterhin fehlendes Wohlbefinden nach Versuch (Nahrungs- und Trinkverweigerung).

Bei den letzten waren Hauptursachen:

a. Infektion oder Nahtinsuffizienz der Prothese, führte zu Peritonitis und Ileus

b. Verwachungs- und Umschlingungsileus.

In der Regel verheilten die operativ gesetzten Wunden ohne Komplikationen. Um die Prothese bildete sich ein abdichtendes Fremdkörpergranulationsgewebe, das jedoch mit zunehmendem Alter der Tiere postoperativ zum Ileus führen kann.

c. Abnagen der einoperierten Katheter.

Die Überlebensdauer postoperativ betrug z. T. mehr als 4 Wochen.

Die Drei-Tage-Grenze postoperativ bis zum Versuchsbeginn hat sich als notwendig erwiesen, um dem Tier ausreichend Zeit zur Überwindung des Operationsstresses zu lassen. Bisher nicht veröffentlichte Daten zeigen, daß es dem Tier in diesem Zeitraum weitgehend gelingt, den unter dem Operationsstreß verminderten Glykogengehalt der Leber wieder aufzufrischen.

Durch die anatomischen Gegebenheiten lassen sich jeweils die gleichen Darmsegmente bei verschiedenen Tieren isolieren.

Gleichzeitig wurde auf vergleichbare Tiergewichte bei möglichst geringer Streuung geachtet. Somit kann ein 10 cm-Segment des Darmes als konstante Resorptionsfläche gelten. Fehler durch interindividuelle Unterschiede fallen dadurch nicht ins Gewicht, weil jeweils am selben Darmabschnitt Kontrollversuche durchgeführt werden. Eine andere mögliche Bezugsgröße ist die Mukosaoberfläche (s. Haberich et al. 1968). Ihre Verwendung wäre mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden und brächte keinen weiteren Vorteil. Somit wurde bei allen Berechnungen die Darmlänge als konstante Bezugsgröße angenommen.

Bei den Bestimmungsmethoden zeigte sich für Volumen, Natrium, Kalium, Osmolalität bei vernachlässigbarer Streuung der Meßwerte eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Bei der Chloridbestimmung mußte darauf geachtet werden, daß die Bestimmungslösung möglichst frisch war und unter der Bestimmung nicht zu trübe wurde, da ansonsten die Streuung der Werte erheblich wurde. Auch die Elektroden mußten blank und von ausreichender Länge sein.

Die Volumenbestimmung erfolgte durch aufeinanderfolgende Dreifacheichung für jede Versuchsserie. Für Natrium, Kalium und Chlorid wurden sowohl für die Ausgangs- als auch für die Endwerte jeweils 6-fach Bestimmungen durchgeführt und der Mittelwert errechnet.

Die Versuche wurden im "geschlossenen System" durchgeführt, bei dem der Darmfluß über einen extrakorporalen Kreislauf geschlossen wurde und ein steady state sich einstellte. Dies zeigte sich in der Linearität der Volumen-Druck-Kurve. Im Elektrolyttransport wurde diese Linearität in mehreren Einzelversuchen geprüft. Unter diesen Versuchsbedingungen wurden ausschließlich die Netto-Flüsse über 60 min. ermittelt. Hierfür war die Linearität des Versuchsablaufs notwendige Voraussetzung, was bei allen Versuchen gegeben war.

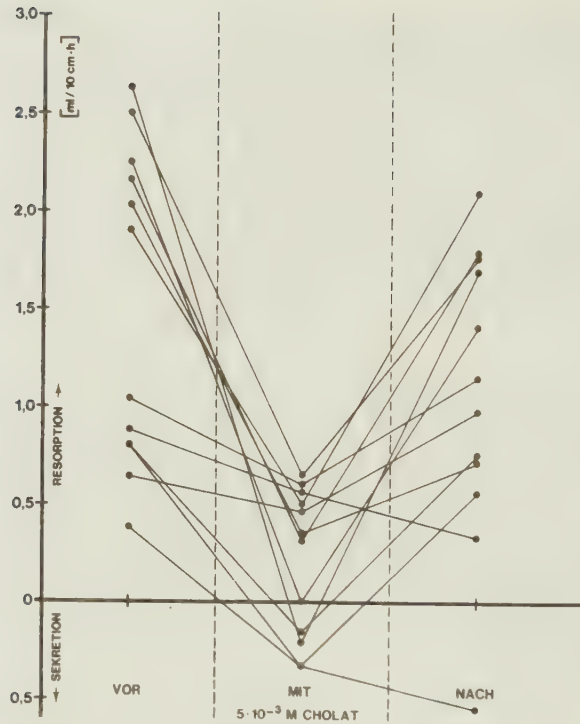


Abb. 7 : Netto - Volumen - Fluß vor, mit und nach 5×10^{-3} M Cholat.

Die jeweils dreigliedrigen Versuchsserien ($n = 12$) sind untereinander verbunden. Beachte die große interindividuelle Streuung. Die statistischen Angaben können Tab. 1 entnommen werden.

Ergebnisse

=====

Ziel der Untersuchungen war es, die Wirkung der unkonjugierten Gallensäuren (GS), Cholat (CH) und Desoxycholat (DC), in physiologischer Konzentration auf den Netto-Volumen- und Netto-Elektrolyt-Transport des proximalen Jejunums in-vivo an der wachen Ratte zu untersuchen.

Die dabei verwandten hypotonen Perfusionslösungen (120 mval/l Na^+ , 5 mval/l K^+ , 220 mosmol/kg) induzieren einen Netto-Fluß vom Darmlumen in Richtung Blut. Die erwartete Netto-Resorption zeigt sich in den Kontrollversuchen vor Einwirkung der unkonjugierten GS. Für eine ausführliche Darstellung der Literatur s. Schultz 1974, Haberich 1969 .

Die im Folgenden beschriebenen Ergebnisse sind wertmäßig in den Tabellen 1 - 5 zusammengestellt. In Abb. 7 sind die Ergebnisse des Netto-Volumentransports als Einzelversuche vor, mit und nach $5 \times 10^{-3} \text{M}$ CH dargestellt. Die Ergebnisse der jeweiligen dreigliedrigen Versuche sind untereinander verbunden. Diese Darstellung kann beispielhaft für alle anderen in den Tabellen aufgeführten Parameter angesehen werden.

I. Verhalten des Netto- Natrium- Flusses (Tab. 1, Abb. 8)

Bei überwiegender Netto- Natrium- Resorption vor GS- Einwirkung (Der statistische Vergleich der Resorptionsquoten vor GS- Einwirkung ergibt zwischen den beiden Netto- Flüssen vor CH- Einwirkung - Extremwerte - einen Unterschied bei ansonsten vergleichbaren Bedingungen.) kommt es unter Einwirkung unterschiedlicher Konzentrationen von CH und DC zu einer Hemmung der Na^+ - Resorption. Der Natriumfluß schlägt in eine Netto-Sekretion um. Vergleicht man den prozentualen Anteil der erzielten Sekretion, so fällt auf, daß es unter der Einwirkung von DC zu einer höheren Sekretionssteigerung kommt, als dies bei CH der Fall ist.

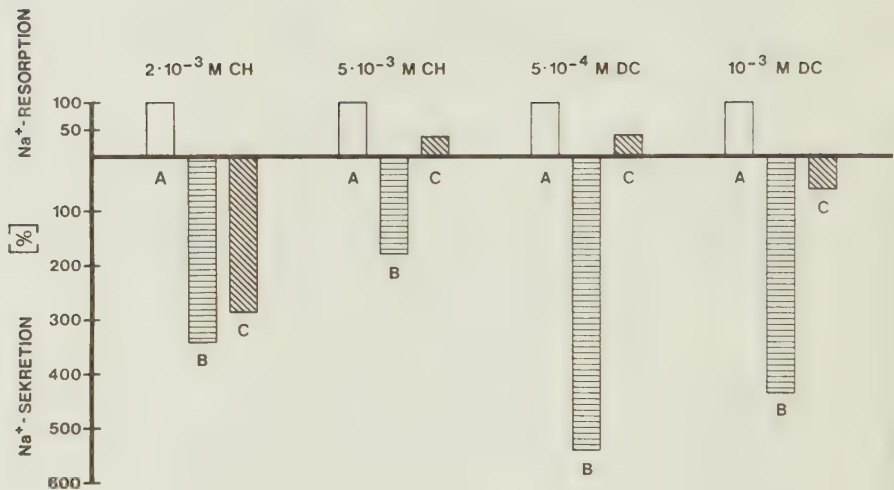


Abb. 8 : Darstellung der prozentualen Änderung der Netto - Na⁺ - Flüsse bei Einwirkung verschiedener Konzentrationen von Cholats (CH) und Desoxycholats (DC)

A = Kontrollversuch "vor" GS

B = unter Einwirkung von GS

C = nach Einwirkung von GS

In den nachfolgenden GS- freien Kontrollversuchen zeigt sich zum Zeitpunkt der Kontrolle keine Reversibilität der Wirkung von $2 \times 10^{-3} \text{ M CH}$, während nach allen anderen Versuchen die Wirkung aufhebbar ist ohne nachweisbare Restwirkung auf den Netto- Natrium- Transport. Der statistische Vergleich der nach GS- Einwirkung in der Kontrolle erzielten Netto- Transportmengen an Na^+ ergibt bis auf die fortdauernde Wirkung nach der geringsten CH- Konzentration keinen Unterschied, so daß das Ausmaß der nach der durch GS bewirkten Netto- Sekretionssteigerung erzielten Netto- Resorptionszunahme gleich ist. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß der Resthemmeffekt, wie er nach $2 \times 10^{-3} \text{ M CH}$ zu beobachten war, am selben Tier im Versuch am darauffolgenden Tag aufgehoben war.

II. Verhalten des Netto- Volumen- Flusses (Tab. 2, Abb. 9)

Bei identischem Ausmaß der Netto- Volumen- Resorption vor Einwirkung der unkonjugierten GS ($P = 0.5$) führt die Zugabe unterschiedlicher Konzentrationen von CH und DC zu einer signifikanten Volumenresorptionsminderung, die unter $5 \times 10^{-4} \text{ M DC}$ in eine geringe Netto- Sekretion umschlägt.

Diese Resorptionsminderung ist jeweils bei nachfolgender Kontrolle mit GS- freier Lösung aufhebbar. Dabei kommt es zu einer Resorptionssteigerung, die allerdings die Ausgangswerte vor GS- Einwirkung nicht völlig erreicht. Es zeigt sich, daß die Wirkung der unkonjugierten Gallensäuren auf den Netto- Volumentransport reversibel ist. Eine signifikante Restwirkung besteht bis auf die Versuche nach der Einwirkung von $5 \times 10^{-4} \text{ M DC}$ ($P = 0.1$) fort.

Betrachtet man das Ausmaß der durch CH und DC erzielten Netto- Volumen- Resorptionsminderung und vergleicht die Volumina und insbesondere die Prozentangaben, so zeigt sich mit steigender CH- Konzentration eine zunehmende Volumen- Resorptionsminderung, die unter DC- Einwirkung ein Minimum ("Plateau") erreicht.

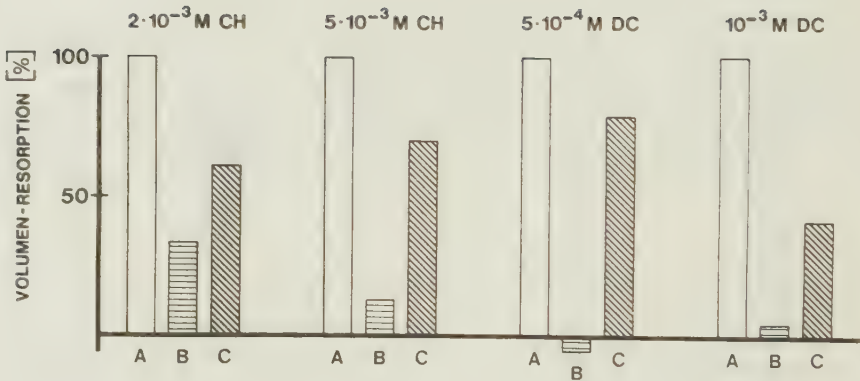


Abb. 9 : Darstellung der prozentualen Änderung der Netto - Volumen - Flüsse bei Einwirkung verschiedener Konzentrationen von Cholol (CH) und Desoxycholol (DC)

A = Kontrollversuch "vor" GS
 B = unter Einwirkung von GS
 C = nach Einwirkung von GS

Statistisch zeigt sich zwischen der Wirkung von $5 \times 10^{-3} \text{ M CH}$, $5 \times 10^{-4} \text{ M DC}$ und $1 \times 10^{-3} \text{ M DC}$ untereinander jeweils kein Unterschied ($P > 0.2 - 0.5$). Eine abgestufte Wirkung zeigt sich statistisch im Vergleich zwischen der Wirkung von $2 \times 10^{-3} \text{ M CH}$ und $5 \times 10^{-3} \text{ M CH}$ ($P < 0.1$), $2 \times 10^{-3} \text{ M CH}$ und $5 \times 10^{-4} \text{ M DC}$ ($P < 0.02$), $2 \times 10^{-3} \text{ M CH}$ und $1 \times 10^{-3} \text{ M DC}$ ($P < 0.05$). Dies zeigt, daß die Wirkung der niedrigsten verwendeten CH- Konzentration auf den Volumentransport am geringsten und diejenige des DC am ausgeprägtesten ist.

Die Wirkung der unkonjugierten GS läßt sich bei nachfolgender Kontrolle aufheben. Betrachtet man die dabei erzielten Netto-Transportmengen und prozentualen Anteile, so zeigt sich nach $1 \times 10^{-3} \text{ M DC}$ (der stärksten verwendeten DC- Konzentration) die nachhaltigste Restwirkung, während bei den anderen Versuchen angenähert die gleichen Resorptionsmengen erzielt werden ($P = 0.2 - 0.5$). Zwischen der Volumenresorption nach $5 \times 10^{-4} \text{ M DC}$ und $1 \times 10^{-3} \text{ M DC}$ besteht ein signifikanter Unterschied ($P < 0.05$).

Die Restwirkung der GS auf den Volumentransport war bei Versuchen am darauffolgenden Tag am selben Tier aufgehoben.

Während sich im Netto- Transport von Na^+ , Cl^- und Osm. (s. dort) nach $2 \times 10^{-3} \text{ M CH}$ - Einwirkung eine z.Z. der Kontrolle irreversible Dauerwirkung nachweisen läßt, ist diese im Volumentransport bei erkennbarer Restwirkung z.Z. der Kontrolle reversibel.

III. Verhalten des Netto- Chlorid- Flusses (Tab. 3, Abb. 10)

Bei gleicher Netto- Cl^- - Resorptionsquote vor der Einwirkung unkonjugierter GS ($P > 0.5$) kommt es unter Zugabe unterschiedlicher CH- und DC- Konzentrationen zu einer signifikanten Umkehr des Netto- Cl^- -Flusses in eine Sekretion. Das Ausmaß der erzielten Netto- Sekretion ist in allen Versuchen gleich ($P > 0.5$) (s. a. Natrium), so daß CH und DC in den hier verwendeten

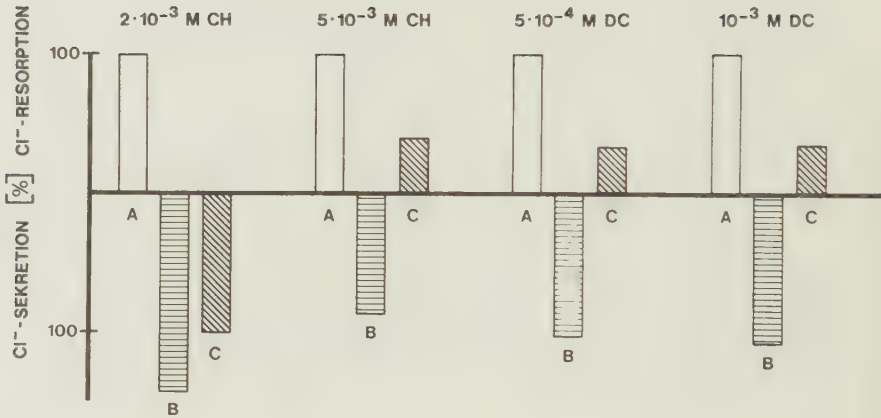


Abb. 10 : Darstellung der prozentualen Änderung der Netto - Cl⁻- Flüsse bei Einwirkung verschiedener Konzentrationen von Cholats (Ch) und Desoxycholats (DC)

A = Kontrollversuch "vor" GS

B = unter Einwirkung von GS

C = nach Einwirkung von GS

Konzentrationen die gleiche Wirkstärke auf den Netto- Cl^- -Transport zeigen.

Dieser Effekt ist bis auf die Versuche nach Einwirkung von $2 \times 10^{-3}\text{M}$ CH reversibel (s. a. Natrium, Osmolalität). Nach $2 \times 10^{-3}\text{M}$ Cholat ist der Hemmeffekt zum Zeitpunkt der Kontrolle nicht aufhebbar.

Betrachtet man an Hand der Tab. 3 die erzielten Resorptionsmengen nach GS- Einwirkung, so deutet sich ein Nachwirkungterschied zwischen der höchsten CH- Konzentration und den DC- Versuchen an, der sich jedoch statistisch nicht sichern läßt.

Auffallend ist die gleichsinnige Irreversibilität z.Z. der Kontrolle nach der Einwirkung der niedrigsten verwendeten CH- Konzentration auf den Nettotransport von Na^+, Cl^- und osmotisch wirksamer Substanz. Dieser Befund konnte nicht geklärt werden. Am selben Tier war der Hemmeffekt in Versuchen am darauffolgenden Tag aufgehoben.

IV. Verhalten des Netto- Kalium- Flusses (Tab. 4, Abb. 11)

Der K^+ - Transport kann nur vorsichtig beurteilt werden, da eine Versuchsserie bei völlig veränderter Ausgangslage (s. Tab. 4) nicht in die Beurteilung einbezogen werden kann.

Die Ursache für die veränderte Resorptionslage in einer Versuchsserie konnte nicht geklärt werden. Bei den anderen Versuchen spielte die geringe Standardabweichung bei gleichzeitig guter Reproduzierbarkeit der bestimmten K^+ - Konzentrationen eine nicht unwesentliche Rolle. Bei der Betrachtung der gleichsinnig verlaufenden K^+ - Versuche zeigt sich bei vorheriger Netto- Resorption ein Umschlag in eine Netto- Sekretion. Dieser Effekt geht jeweils in der Kontrolle signifikant ohne Resthemmung in eine Resorption über.

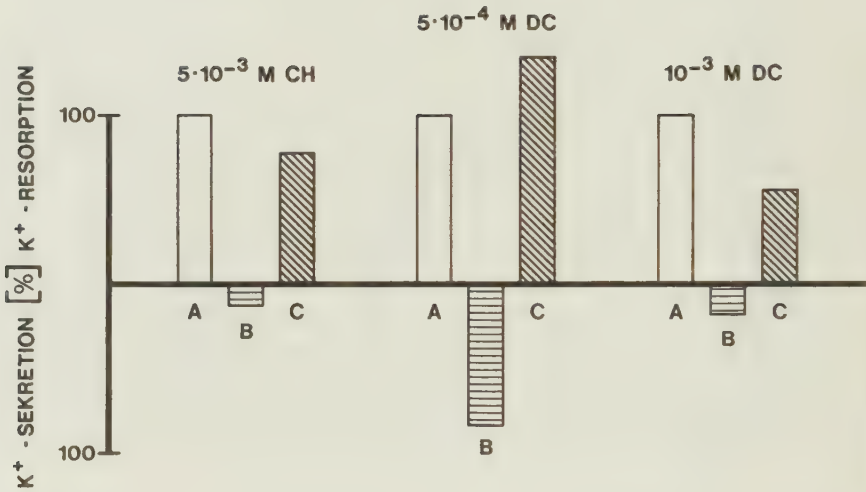


Abb. 11 : Darstellung der prozentualen Änderung der Netto - K^+ - Flüsse bei Einwirkung verschiedener Konzentrationen von Cholat (CH) und Desoxycholat (DC)

A = Kontrollversuch "vor" GS

B = unter Einwirkung von GS

C = nach Einwirkung von GS

V. Verhalten des Netto- Flusses an osmotisch wirksamer
Substanz (Tab. 5)

Bei variablem Ausgangs- Netto- Transportverhalten (s. a. Standardabweichung) führt die Zugabe der GS zu einer jeweils signifikanten Netto- Sekretionssteigerung.

Diese wird in der nachfolgenden GS- freien Kontrolle signifikant aufgehoben und in eine Netto- Resorptionssteigerung überführt ohne signifikante Restwirkung.

In den Kontrollen nach $2 \times 10^{-3} \text{ M CH}$ läßt sich die Sekretionssteigerung nicht aufheben. Eine signifikante Wirkung besteht fort (s. a. Na^+ , Cl^-).

Verhalten der Netto-Natrium-Flüsse

Tabelle 1

[$\mu\text{val}/10 \text{ cm} \cdot 60 \text{ min}$]Versuche mit Cholsäure1.) $2 \times 10^{-3} \text{ M/l Ch}$

	vor	mit	nach
M.W.	+ 32,94	113,006	91,006
St.A.	95,485	104,68	107,216
%	100	+ 343,1	+ 276,3
n	15	15	15

$\text{--- } P < 0,001 \text{ ---}$ $\text{--- } P < 0,2 \text{ ---}$
 $\text{--- } P < 0,05 \text{ ---}$

2.) $5 \times 10^{-3} \text{ M/l Ch}$

	vor	mit	nach
M.W.	- 64,125	115,191	- 23,825
St.A.	75,478	48,023	83,43
%	100	- 180	37,1
n	12	12	12

$\text{--- } P < 0,0001 \text{ ---}$ $\text{--- } P < 0,002 \text{ ---}$
 $\text{--- } P < 0,2 \text{ ---}$

Versuche mit Desoxycholsäure1.) $5 \times 10^{-4} \text{ M/l DC}$

	vor	mit	nach
M.W.	- 24,146	130,553	- 9,415
St.A.	115,233	92,863	72,006
%	100	- 540,7	39
n	13	13	13

$\text{--- } P < 0,001 \text{ ---}$ $\text{--- } P < 0,001 \text{ ---}$
 $\text{--- } P < 0,5 \text{ ---}$

2.) 10^{-3} M/l DC

	vor	mit	nach
M.W.	- 17,844	77,788	11,2
St.A.	99,963	85,347	100,998
%	100	- 435,9	- 62,8
n	9	9	9

$\text{--- } P < 0,01 \text{ ---}$ $\text{--- } P < 0,05 \text{ ---}$
 $\text{--- } P < 0,5 \text{ ---}$

Verhalten der Netto-Volumen-Flüsse

Tabelle 2

[ml/10 cm · 60 min]

Versuche mit Cholsäure

1.) 2×10^{-3} M/l Ch

	vor	mit	nach
M.W.	- 1,417	- 0,477	- 0,868
St.A.	0,637	0,5	0,699
%	100	33,7	61,3
n	19	19	19

└ P < 0,0001 ┐ └ P < 0,001 ┐
└────────── P < 0,01 ─────────┘

2.) 5×10^{-3} M/l Ch

	vor	mit	nach
M.W.	- 1,5	- 0,2	- 1,05
St.A.	0,813	0,379	0,745
%	100	13,3	70
n	12	12	12

└ P < 0,001 ┐ └ P < 0,002 ┐
└────────── P < 0,05 ─────────┘

Versuche mit Desoxycholsäure

1.) 5×10^{-4} M/l DC

	vor	mit	nach
M.W.	- 1,48	0,076	- 1,17
St.A.	1,076	0,641	0,707
%	100	- 5,1	79
n	13	13	13

└ P < 0,0001 ┐ └ P < 0,0001 ┐
└────────── P = 0,1 ─────────┘

2.) 10^{-3} M/l DC

	vor	mit	nach
M.W.	- 1,145	- 0,056	- 0,475
St.A.	0,698	0,539	0,756
%	100	4,9	41,5
n	9	9	9

└ P < 0,0001 ┐ └ P < 0,02 ┐
└────────── P < 0,01 ─────────┘

Verhalten der Netto-Chlorid-Flüsse

Tabelle 3

[$\mu\text{val}/10 \text{ cm} \cdot 60 \text{ min}$]

Versuche mit Cholsäure

1.) $2 \times 10^{-3} \text{ M/l Ch}$

	vor	mit	nach
M.W.	- 63,628	91,107	66,478
St.A.	226,702	78,877	110,858
%	100	- 143,2	- 101,3
n	14	14	14

└─ P < 0,02 ─┐ └─ P < 0,2 ─┐

└───────── P < 0,05 ─────────┘

2.) $5 \times 10^{-3} \text{ M/l Ch}$

	vor	mit	nach
M.W.	- 96,677	84,472	- 38,69
St.A.	69,115	64,332	91,232
%	100	- 87,4	40
n	11	11	11

└─ P < 0,001 ─┐ └─ P < 0,01 ─┐

└───────── P < 0,1 ─────────┘

Versuche mit Desoxycholsäure

1.) $5 \times 10^{-4} \text{ M/l DC}$

	vor	mit	nach
M.W.	- 90,207	92,7	- 30,8
St.A.	107,079	75,906	102,938
%	100	- 102,8	34,1
n	13	13	13

└─ P < 0,001 ─┐ └─ P < 0,01 ─┐

└───────── P < 0,05 ─────────┘

2.) 10^{-3} M/l DC

	vor	mit	nach
M.W.	- 75,7	80,614	- 26,285
St.A.	82,252	65,267	65,338
%	100	- 106,5	34,7
n	7	7	7

└─ P < 0,002 ─┐ └─ P < 0,001 ─┐

└───────── P < 0,1 ─────────┘

Verhalten der Netto-Kalium-Flüsse

Tabelle 4

[$\mu\text{val}/10 \text{ cm} \cdot 60 \text{ min}$]

Versuche mit Cholsäure

1.) $2 \times 10^{-3} \text{ M/l Ch}$

	vor	mit	nach
M.W.	24,18	9,386	24,993
St.A.	13,976	9,397	10,983
%	100	39	101
n	15	15	15
$\text{--- } P < 0,0001 \text{ --- } P < 0,0001 \text{ ---}$ $\text{--- } P < 0,5 \text{ ---}$			

2.) $5 \times 10^{-3} \text{ M/l Ch}$

	vor	mit	nach
M.W.	- 9,606	1,254	- 7,477
St.A.	3,829	2,423	4,125
%	100	- 13	+ 78
n	11	11	11
$\text{--- } P < 0,0001 \text{ --- } P < 0,001 \text{ ---}$ $\text{--- } P < 0,2 \text{ ---}$			

Versuche mit Desoxycholsäure

1.) $5 \times 10^{-4} \text{ M/l Dc}$

	vor	mit	nach
M.W.	- 4,396	3,658	- 5,896
St.A.	7,207	4,766	3,148
%	100	- 83,2	134
n	12	12	12
$\text{--- } P < 0,002 \text{ --- } P < 0,0001 \text{ ---}$ $\text{--- } P < 0,5 \text{ ---}$			

2.) 10^{-3} M/l Dc

	vor	mit	nach
M.W.	- 5,777	1,011	- 3,233
St.A.	3,490	2,819	3,798
%	100	- 17,5	56
n	9	9	9
$\text{--- } P < 0,002 \text{ --- } P < 0,002 \text{ ---}$ $\text{--- } P < 0,1 \text{ ---}$			

Verhalten der Netto-Osmolarität

Tabelle 5

[$\mu\text{osmol}/10 \text{ cm} \cdot 60 \text{ min}$]

Versuche mit Cholsäure

1.) $2 \times 10^{-3} \text{ M/l Ch}$

	vor	mit	nach
M.W.	- 4,354	256,563	141,509
St.A.	210,388	278,612	253,654
%	100	- 5892	- 3250
n	11	11	11

└─ P < 0,02 ─┐ └─ P < 0,2 ─┐

└────────── P < 0,05 ─────────┘

2.) $5 \times 10^{-3} \text{ M/l Ch}$

	vor	mit	nach
M.W.	- 32,472	238,345	30,49
St.A.	161,776	121,957	143,154
%	100	- 734	- 94
n	11	11	11

└─ P < 0,002 ─┐ └─ P < 0,01 ─┐

└────────── P < 0,2 ─────────┘

Versuche mit Desoxycholsäure

1.) $5 \times 10^{-4} \text{ M/l Dc}$

	vor	mit	nach
M.W.	174,145	433,29	118,19
St.A.	298,438	329,608	199,886
%	100	248,9	67,8
n	11	11	11

└─ P < 0,01 ─┐ └─ P < 0,01 ─┐

└────────── P < 0,5 ─────────┘

Diskussion

=====

Zur Physiologie der Gallensäuren

Gallensäuren (GS) werden in der Leber aus Cholesterin synthetisiert und speisen einen enterohepatischen Kreislauf der GS. In der Leber entstehen als primäre GS die Cholsäure (CH), eine Trihydroxycholansäure, und die Chenodesoxycholsäure (CDC), eine Dihydroxycholansäure. Diese werden mit Glycin oder Taurin konjugiert (75% Glycin, 25% Taurin) (Hofmann 1968) und über die Galle ins Duodenum abgegeben.

Im Dünndarm erfolgt z. T., durch Einwirkung intestinaler Bakterien eine Dekonjugation, sodaß aus den Konjugaten freie, unkonjugierte GS entstehen, deren Hydroxylgruppen ebenfalls durch Bakterien abgespalten werden können. (Hill 1968, Aries 1969, Midtvedt 1967). So entstehen aus den primären GS, CH und CDC, die sekundären GS, Desoxycholsäure (DC) und Urso-deoxycholsäure bzw. Lithocholsäure (s. a. Bergström 1968, Badley 1970). In den vorliegenden Versuchen wurde die primäre unkonjugierte GS, CH, und ihre sekundäre GS, DC verwandt.

Im Darmlumen liegt die physiologische Aufgabe der GS, insbesondere der Konjugate, in der Emulgierung von Monoglyceriden und freien Fettsäuren und in der Aktivierung der Pankreas-lipase. (Austad 1967, Hofmann 1964, Hofmann 1963) Dabei bilden sie sowohl alleine als auch mit den Lipiden Micellen (Carey 1970). Die Micellen, als Detergentien, besitzen geeignet angeordnete hydrophile und hydrophobe (lipophile) Regionen. Dadurch können sie die an sich wasserunlöslichen Fette und das schwerlösliche Cholesterin in Lösung halten. Die Micellenbildung erfolgt oberhalb einer kritischen micellaren Konzentration (CMC) und oberhalb einer kritischen Temperatur (Krafft-Punkt) (Hofmann 1965). Für die gewöhnlichen konjugierten GS liegt der Krafft-Punkt unter dem Gefrierpunkt von Wasser und ihre CMC, ca. 2.- 3 mM, ist unter der Konzentration, die normalerweise in der Galle (50 - 150 mM) und im Darminhalt (6 - 10 mM) gefunden wird. Somit befinden sich die konjugierten GS unter physiologischen Bedingungen immer in micellarer

Lösung (Hofmann 1965). Unkonjugiertes Natriumcholat verhält sich bis zu einer Konzentration von 0.014 M wie ein normales uni-univalentes Elektrolyt. Seine Micellenbildung ist voll ausgebildet, wenn die Konzentration 0.05 M überschreitet. Zwischen diesen beiden Konzentrationen hat sich nur ein Teil der Cholationen der Micellenbildung unterworfen. Unkonjugiertes Natriumdesoxycholat verhält sich wie ein dissoziiertes Elektrolyt bis zu einer Konzentration von ungefähr 0.045 M und Micellenbildung ist voll entwickelt in Lösungen oberhalb 0.01 M (Ekwall 1957).

Die pK -Werte sind für unkonjugiertes CH ($pK_A = 4.98 \pm 0.05$; $K_A = 1.05 \cdot 10^{-5}$) und unkonjugiertes DC ($pK_A = 5.17 \pm 0.04$; $K_A = 6.76 \cdot 10^{-6}$) (Ekwall 1957). Für Tauro-CH liegen sie bei 1.5 und für Glyko-CH bei 3.7 (Hofmann 1967, Small 1969). Auf Grund ihres niedrigen pK liegen die konjugierten GS im oberen Dünndarm in der ionisierten Form vor und können damit nicht in Blut oder Lymphe diffundieren. Dies ist zur Aufrechterhaltung ihrer Konzentration im Darmlumen zur micellaren Lösung der Lipide notwendig. Dies setzt allerdings voraus, daß die GS im Darmlumen in der konjugierten Form erhalten bleiben (Heaton 1969).

Es ist bekannt, daß unkonjugierte GS, insbesondere CH, DC, CDC, bereits im proximalen Jejunum unter Normalbedingungen in Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-3} M vorliegen. Forth (1966) fand in der Rattengalle -spektrofluorometrisch bestimmt- praktisch keine freien GS, wohingegen er die Konzentrationen im Jejunum für CH mit 3×10^{-3} M (Coecum 7.9×10^{-3} M, Colon 6.7×10^{-3} M) und ebenfalls dort für DC bzw. CDC mit 7×10^{-4} M (Coecum 7.5×10^{-3} M, Colon 8.3×10^{-3} M) angibt. Diese Konzentrationen sind unter pathophysiologischen Bedingungen z.T. weitaus größer (Gracey et al. 1971, Gracey 1971, Danö 1974, Tabaqchali 1968, Tabaqchali 1970, Bloch 1975, Garbutt 1970, Garbutt 1971).

Die bei den vorliegenden Versuchen verwandten GS-Konzentrationen entsprechen den Verhältnissen im oberen Dünndarm und sind im optimalen Löslichkeitsbereich (Ekwall).

Wesentlich für das Verständnis der durch unkonjugierte GS bedingten Ergebnisse dürfte neben ihrer Löslichkeit ihre

Resorption im Dünndarm sein. (In der vorliegenden Untersuchung wurde die Resorption der GS nicht bestimmt.)

1965 berichtete Dietschy über die Transportmechanismen für GS am Rattendünndarm (s.a.Weiner 1968, Tyor 1971, Forth 1968, Dietschy 1967,1968, Schiff 1972). Es herrscht Klarheit darüber, daß es ein gemeinsames Na^+ - abhängiges Transportsystem für GS im terminalen Ileum gibt, sowohl für konjugierte als auch für unkongugierte GS. Dabei erfolgt die Resorption konjugierter GS nahezu ausschließlich im terminalen Ileum. Im Portalblut der Ratte findet man einen unkongugierten GS- Anteil von 36 % der Gesamt- GS (Holt 1966). Dies weist einerseits darauf hin, daß im Laufe der Darmpassage das Ausmaß der z.T. bakteriellen Dekonjugation der GS nicht unerheblich ist, wie andererseits für unkongugierte GS neben dem aktiven Transportsystem im terminalen Ileum andere Transportformen eine wesentliche Rolle spielen müssen.

Vergleichende Beurteilung und Interpretation

Parkinson (1963) berichtete über eine irreversible Hemmwirkung von DC und dabei gleichzeitig auftretende starke morphologische Schäden der Jejunum- Mukosa der Ratte in vitro. 1964 stellte er die These auf, daß konjugierte GS primär durch Adsorption an die Oberfläche der Mukosazelle und Hemmung der membrangebundenen (Na^+ -, K^+ -) ATP-ase die Resorption bzw. Sekretion aktiv- transportierter Substanzen beeinflussen. Die gerade durch Parkinson und Mitarbeiter beschriebenen Hemmwirkungen der konjugierten GS dürften, wie spätere Veröffentlichungen gezeigt haben, auf Verunreinigungen u.a. mit unkongugierten GS zurückzuführen sein. Pope fand 1966, daß eine Konzentration von 0.4 mM DC den Na^+ - Transport hemmte und daß 1 mM DC die ATP-ase Aktivität zu 52 % einschränkte wie auch reines GC und TC in Konzentrationen von 8 mM.

An dieser Stelle sei angemerkt, daß in den meisten Versuchen, in denen die Wirkung freier GS auf die Resorption untersucht wurde, die Versuchslösungen auch Glukose enthielten, deren Einfluß auf die Na^+ -Absorption bekannt ist (s.a. Schultz 1974, Dennhardt und Haberich 1973, Sladen 1972). Ebenfalls Schwierigkeiten bereitet die Beurteilung der Ergebnisse anderer Untersucher durch die grundsätzlichen Schwierigkeiten beim Vergleich von in- vitro- Befunden mit Ergebnissen aus in- vivo- Methoden bei unterschiedlichen Formen von in- vivo- Versuchsbedingungen (s.a. Kritik der Methode, Wingate 1976, Nell 1976).

Forth (1966) fand keine Mukosaschädigungen durch DC und Teem (1972) lediglich einen Epithelverlust auf den Spitzen der Zotten bei reversiblen Hemmeffekten. Bei den vorliegenden Ergebnissen kann trotz fehlender morphologischer Untersuchungen davon ausgegangen werden, daß morphologische Schädigungen durch unkonjugierte GS nicht wesentlich sein können, da ihre Wirkung überwiegend reversibel war.

Weiter erschwert wird der Vergleich der Ergebnisse anderer Untersucher mit den eigenen Befunden durch die dort angewandte z.T. alkalische Pufferung im proximalen Jejunum, die zu anderen Löslichkeitsverhältnissen der freien GS führt, als sie beim physiologisch sauren pH in diesem Darmabschnitt vorliegen dürften (Konder 1977).

Forth (1966) gibt als wirksame Grenzkonzentration für eine hemmende Wirkung der Volumenabsorption 10^{-4} M DC (in vitro) und $6 - 7 \times 10^{-3}$ M CH (in vivo) an. In situ findet er eine Hemmwirkung von 70 % des Volumentransports, bewirkt durch 10^{-3} M DC (73 % durch 5×10^{-4} M DC in vitro und 70 % Na- Resorptionshemmung).

Teem (1972) untersuchte mit isotonen, pH 8- gepufferten Lösungen die Wirkung von DC und CH auf den Volumentransport. Er fand bei einer CH- Konzentration von 8 mMol/l keine Hemmwirkung. Für DC konnte er eine Dosis- abhängige Hemmwirkung auf die Volumenabsorption feststellen (1 mM keine Wirkung, 2,5 bis 4 mM zunehmend stärkere Wirkung). Die Wirkung von 4 mM DC war reversibel.

Harries (1972) fand erst eine signifikante Resthemmwirkung bei Reversibilität bei 5 mM DC.

Sladen (1972) fand bei seiner isotonen, pH 7,4- gepufferten in- vivo- Untersuchung Unterschiede bei Anwesenheit oder Fehlen von Glukose. In Anwesenheit von Glukose findet er bei 1 mM DC eine signifikante Hemmung der Volumen-, Na^+ - und Cl^- - Absorption bei K^+ - Sekretion, bei 2.5 mM DC eine komplette Hemmung der Na^+ - Absorption und bei 5 mM DC eine Na^+ - Sekretion bei gesteigerter K^+ - Sekretion. Gleichzeitig stellt er eine Steigerung des unidirektionalen Na^+ - Flusses Plasma zum Lumen bei unverändertem Fluß in der umgekehrten Richtung fest. Unter Verwendung glukosefreier Lösung findet er bei 1 mM DC keinen Effekt auf Volumen-, Na^+ -, Cl^- -, K^+ - Transport. Erst bei Verwendung von 5 mM DC tritt eine Volumen- Sekretion auf.

Die in der vorliegenden Untersuchung beschriebenen Ergebnisse zeigen bereits bei niedrigeren Konzentrationen eindeutige Befunde insbesondere auch bei der Gabe von CH, wobei Unterschiede nach Dosis und verwandter GS klar erkennbar sind. Es zeigt sich insbesondere bei der Hemmwirkung auf den Volumentransport, daß die durch die Dihydroxycholansäure DC erzielten Resorptionsminderungen bei gegebener Reversibilität stärker sind als diejenigen durch die Trihydroxycholansäure CH. Die ausgeprägten Befunde dürften sicherlich auch auf die Verwendung einer hypotonen Lösung zurückzuführen sein, wobei die fehlende Pufferung die Einstellung eines örtlich physiologischen pH's begünstigen dürfte.

Die Sekretionssteigerung unter GS für K^+ deutet auf einen passiven Vorgang bei der Wirkung hin, wobei " solvent-drag " - Phänomene eine Rolle spielen dürften (Dennhardt und Haberich 1973). Vergleicht man das Netto- Verhalten des Na^+ - und Cl^- - Flusses, so fällt deren Gleichsinnigkeit auf. Festzuhalten ist die ausgeprägte Netto- Sekretionssteigerung des Na^+ - Flusses (s.a. %- Angaben). In wie weit beim Cl^- - Transport Austauschphänomene mit Bikarbonat eine Rolle spielen, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen (Konder, 1977). In der Literatur liegen hierzu keine speziellen Arbeiten unter Gallensäureeinfluß vor (s.a. Schultz 1974, Wingate 1976).

Lineare Abhängigkeit von Netto- Volumenfluß (x) und Netto- Fluß an osmotisch wirksamer Substanz (y)

I.)	2×10^{-3} M CH	5×10^{-3} M CH	5×10^{-4} M DC
A	$y = 386.1 + 231.4x$ (n=15) r=0.721	$y = 210.2 + 166.2x$ (n=12) r=0.876	$y = 434.5 + 211.4x$ (n=11) r=0.685
B	$y = 393.7 + 365.6x$ (n=14) r=0.737	$y = 266.6 + 163.7x$ (n=11) r=0.517	$y = 346.0 + 319.2x$ (n=10) r=0.895
C	$y = 342.6 + 220.8x$ (n=14) r=0.682	$y = 198.4 + 175.4x$ (n=11) r=0.862	$y = 328.4 + 206.1x$ (n=11) r=0.680

II.) Annahme Null- Volumenfluß

	2×10^{-3} M CH	5×10^{-3} M CH	5×10^{-4} M DC
A	386 $\mu\text{osm}/\text{locm.h}$	210 $\mu\text{osm}/\text{locm.h}$	434 $\mu\text{osm}/\text{locm.h}$
B	"	"	"
C	"	"	"

III.) Experimentell ermittelte Werte

	2×10^{-3} M CH	5×10^{-3} M CH	5×10^{-4} M DC
Volumen Osmolarität ml/locm.h $\mu\text{osm}/\text{locm.h}$	Volumen Osmolarität ml/locm.h $\mu\text{osm}/\text{locm.h}$	Volumen Osmolarität ml/locm.h $\mu\text{osm}/\text{locm.h}$	Volumen Osmolarität ml/locm.h $\mu\text{osm}/\text{locm.h}$
A - 1.4	- 4	- 1.5	- 1.5
B - 0.5	256	- 0.2	0.1
C - 0.9	141	- 1.0	- 1.17
		32	174
		238	433
		30	118

Tabelle 6 : Synoptische Zusammenfassung der linearen
Abhängigkeit von Netto - Volumen - Fluß (x)
und Netto - Fluß an osmotisch wirksamer
Substanz (y)

I. Regressionsgeraden mit Korrelationskoeffizient

II. Berechnung der Netto-Flüsse an osmotisch
wirksamer Substanz unter Annahme eines
O-Volumen-Flusses

III. Experimentell ermittelte Werte (Tab.5)

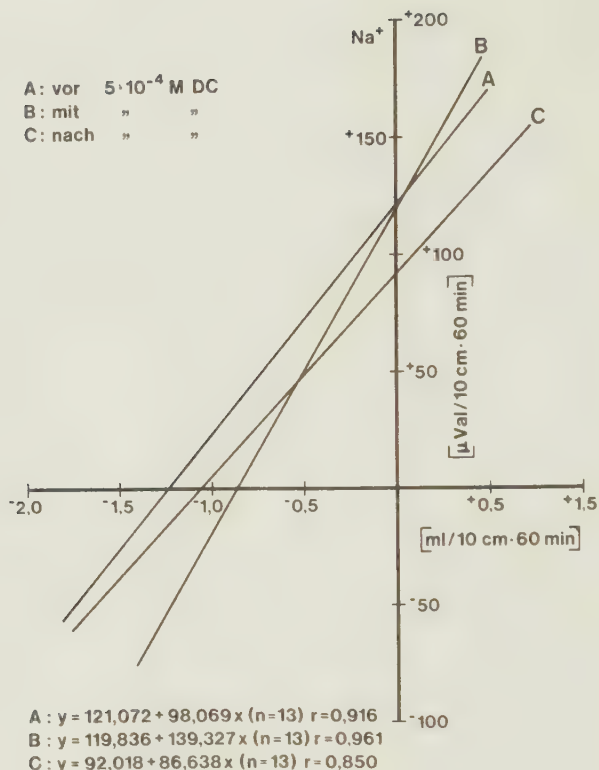


Abb. 12a : Abhängigkeit von Netto-Volumen- und Netto- Na^+ -Fluß

Ordinate: Netto - Na^+ - Fluß ($\mu\text{val}/10\text{cm} \times 60\text{min}$)

Abszisse: Netto-Volumen-Fluß ($\text{ml}/10\text{cm} \times 60\text{min}$)

Mit dem Minuszeichen ist Resorption ausgedrückt.

Dargestellt sind die Regressionsgeraden vor (A),

unter (B) und nach (C) der Einwirkung von

5×10^{-4} M Desoxycholat.

Die Verschiebung der Geraden C gegenüber A und B

auf der y-Achse ist signifikant ($P < 0,0001$). Die

Steilheitsänderung der Geraden B gegenüber A und C

ist signifikant ($P < 0,05$).

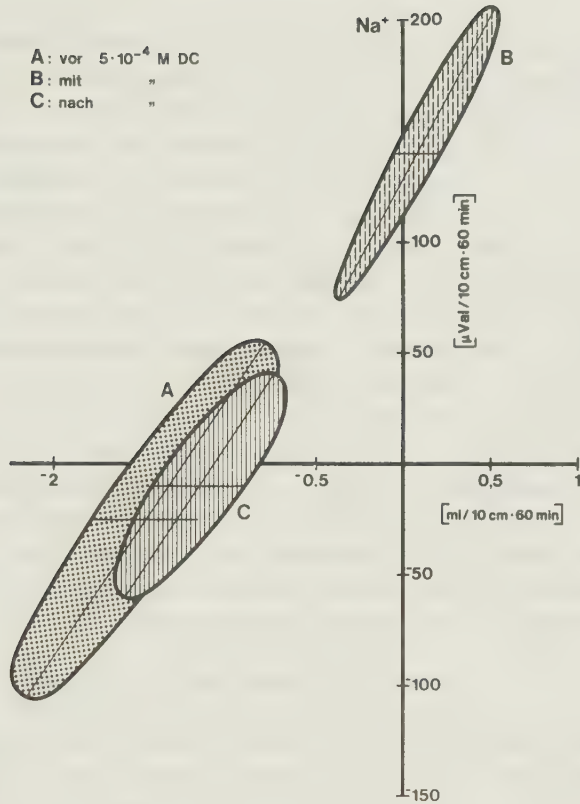


Abb. 12b : Abhängigkeit von Netto-Volumen- und Netto- Na^+ -Fluß
 Erläuterungen s. Abb. 12a . Zusätzlich sind die
 Mittelwerte mit ihren Streuungen als Ellipsen
 um die Regressionsgeraden aufgetragen.
 Weitere Erläuterungen im Text

Errechnet man aus den Versuchskollektiven die Abhängigkeit von Netto- Volumenfluß (x) und Netto- Fluß an osmotischer Substanz (y) (s.Tab. 6), so ergibt sich unter der Annahme eines Volumenflusses von Null ml zwischen den jeweils drei Versuchsteilen und unter den Versuchsgruppen kein Unterschied. Bei jeweils gegebener signifikanter Korrelation zeigt sich unter den Bedingungen einer hypotonen Perfusion eine Sekretion an osmotisch wirksamer Substanz, deren Menge bei fehlendem Volumenfluß mit oder ohne GS vergleichbar ist. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen (II) erfolgt unter GS eine Netto- Volumen- Resorptionsminderung gegenüber den Kontrollen bei ausgeprägter Sekretionssteigerung an osmotisch wirksamer Substanz.

Abb. 12 zeigt am Beispiel des Versuchskollektivs unter Einwirkung von 5×10^{-4} M DC den Netto- Na^+ - und Netto- Volumenfluß in ihrer linearen Abhängigkeit aufgetragen. Mit dem Minuszeichen ist die Resorption ausgedrückt. Als Ellipsen sind die jeweiligen Versuchskollektive um ihre Regressionsgerade um die errechneten Mittelwerte aufgetragen.

Im Falle A (vor DC) stellt sich eine Netto- Resorptionslage für Volumen bei überwiegender Netto- Resorption für Na^+ dar. Dabei besteht zwischen beiden Flüssen bei einem $r = 0.916$ eine enge Korrelation, in dem der Quotient $\Delta J_{\text{Na}^+} / \Delta J_{\text{Volumen}}$ konstant ist, was durch die Steilheit der Ellipse (Regressionsgerade A) ausgedrückt wird. Diese Beziehung schneidet die y-Achse bei einem J_{Na^+} von $121 \mu\text{val} / 10 \text{ cm.h}$, d.h., bei einem O-Volumenfluß findet eine Netto- Na^+ - Sekretion in dieser Menge statt. Diese Sekretion kann auf den in Richtung Darmlumen gerichteten Gradienten zurückgeführt werden. Bei der nachfolgenden Kontrolle (Fall C) liegen die Werte in vergleichbarem Bereich, so daß bei gleicher Neigung der Ellipsen A und C das Äquivalent miteinander transportierter Natrium- und Wassermengen als annähernd gleich angesehen werden kann. Die Parallelverschiebung der Geraden C gegenüber A kann dabei als Restwirkung von DC verstanden werden. Unter der Gabe dieser DC- Konzentration (Fall B) erfolgt unter der Annahme eines O- Volumenflusses eine identische Na^+ - Sekretion ($119 \mu\text{val} / 10 \text{ cm.h}$) wie in

den Kontrollversuchen ausgedrückt durch die Schnittpunkte der Geraden mit der y-Achse. Die Steilheit der Ellipse (B) und damit der Quotient $\Delta J_{Na} / \Delta J_{Volumen}$ ist signifikant größer als unter A und C. Dies bedeutet, daß das Äquivalent Natrium zu Volumen ansteigt. Dabei sind Netto- Volumen- und Netto- Natrium- Fluß unter DC- Wirkung in Richtung Sekretion verschoben.

Da sich unter einem Null- Volumen- Fluß keine wesentlichen Änderungen unter GS' Einfluß in der Sekretion osmotischer Substanz oder Natrium ergeben, müssen die tatsächlichen Versuchsergebnisse so gedeutet werden, daß unter unkonjugierten GS - in physiologischer Dosierung - die apikale Membran der Darmmukosa reversibel verändert wird. Diese Dissoziation von Natrium- und Volumenfluß, die sich graphisch in der verschobenen Ellipse B zeigt, kann durch eine reversible Hemmung des Volumenflusses bei erhaltenem und gesteigertem passiven Natriumfluß in den Darm gedeutet werden. Da das Na^+ - Volumen- Äquivalent unter den gegebenen Bedingungen ansteigt, muß auch eine selektive Beeinflussung der aktiven blutwärts gerichteten Natrium- Bewegung angenommen werden. Eine eindeutige Klärung ist nur durch Bestimmung der unidirektionalen Flüsse möglich.

Bei einem Reflexionskoeffizienten von 0.96 (Dietschy) spielt der "bulk flow" durch "solvent drag" für unkonjugierte und konjugierte GS keine Rolle.

Für den oberen Dünndarm dürften auf Grund des sauren pH-Wertes und der Löslichkeitsverhältnisse für unkonjugierte GS, die dort in nicht-ionisierter Form vorliegen, Diffusionsprozesse eine erhebliche Rolle in der Absorption der unkonjugierten GS spielen. Nach Dietschy werden im oberen Dünndarm der Ratte 600 - 2000 $\mu M/min \times cm$ Darm unkonjugierte GS durch passive nicht-ionische Diffusion resorbiert. Betrachtet man in diesem Zusammenhang das Molekulargewicht von CH (408.58) und DC (392.58), dann dürfte die Diffusion dieser GS während der Versuche auf die eingetretene Dissoziation von Volumen und Natriumfluß einen Einfluß haben.

Der Porenradius der Darmmukosazelle beträgt ca. 4 Å und der Sphärenradius der GS liegt in der Größenordnung von ca. 10 Å.

"Diese Partikel sollten nicht schnell durch die Darmwand diffundieren; ihre Adsorption an die Mukosaoberfläche könnte sehr wohl die Poren blockieren und dabei die Diffusion hemmen" (Parkinson 1964). Forth (1968) stellte fest, daß "der durch die Darmwand gebundene Anteil freier Gallensäuren größer ist als der konjugierter". Für die Passage durch die Darmwand spielt die Polarität der Substanz - im Falle der GS wesentlich bestimmt durch die Anzahl und Position der Hydroxylgruppen - ebenfalls eine Rolle. Diese Interpretationen könnten u.U. die Unterschiede nach Dosis und Substrat in der Wirkung der GS, die in den vorliegenden Untersuchungen insbesondere auf den Volumentransport festgestellt wurden, erklären.

Sladen (1972) beschrieb unter 5 mM DC eine Steigerung des unidirektionalen Na^+ -Flusses Plasma zum Darmlumen bei unverändertem Fluß in der umgekehrten Richtung.

Nell (1976) diskutierte die Veränderungen des Na^+ -Flusses am Colon der Ratte. Er findet eine Zunahme des Na^+ -Flusses vom Blut zum Lumen unter DC bei Zunahme der Permeabilität der Colonmukosa für Substanzen, die normalerweise in lebende Zellen nicht eindringen bei unveränderten Konzentrationen in den Zellen. (Literatur über die Transportwege und Mechanismen des Na^+ -Flusses s. Schultz 1974). Er gibt deshalb als Weg des Na^+ 's vom Blut zum Lumen den interzellulären Weg über tight-junctions an und widerspricht der Annahme einer Beeinflussung des Pump-Mechanismusses oder der Permeabilität der Mukosazellmembran selbst. In wieweit dies auf die Jejunal Schleimhaut zutrifft ist ungeklärt. Es gibt Autoren, die dort eine Beeinflussung der ATP-ase Aktivität beschreiben (Parkinson 1964, Pope 1966, Volpe 1975).

Zusammenfassung

=====

1. Mit Hilfe einer in-vivo-Perfusionstechnik wird das Netto- Transportverhalten des proximalen Jejunums der wachen Ratte im geschlossenen System untersucht. Mit Hilfe dieser Technik ist es möglich, jederzeit reversibel und wiederholbar ein ca. 10 cm Segment des Darmes vorübergehend funktionell zu isolieren. Die Vorteile dieser Methode werden ausführlich dargestellt.
2. Der Einfluß der unkonjugierten Gallensäuren Cholat und Desoxycholat auf das Netto- Transportverhalten von Volumen, Natrium, Chlorid, Kalium und osmotisch wirksamer Substanz wird während der Perfusion des Darmsegmentes mit einer hypotonen, ungepufferten Elektrolytlösung untersucht. Die Wirkung der Gallensäuren wird jeweils am selben Tier durch vorausgehende und nachfolgende 60-minütige Kontrollversuche mit gallensäurefreier Perfusionslösung verglichen.
3. Unkonjugiertes Cholat und Desoxycholat in physiologischer Dosierung bewirken eine Netto- Resorptionsminderung bzw. Sekretionssteigerung für alle untersuchten Parameter. Diese Wirkung ist weitgehend reversibel.
4. Insbesondere im Ausmaß ihrer Wirkung auf den Netto- Volumen- Transport lassen die unkonjugierten Gallensäuren Unterschiede nach Dosis und angewandter Substanz erkennen.
5. Die Physiologie der Gallensäuren und ihre Wirkmechanismen werden ausführlich diskutiert.

Literaturverzeichnis

=====

- Andersen, N. B.,
L. Amaranath
Anesthetic Effects on Transport
Across Cell Membranes
Anesthesiology 39, 126-152 (1973)
- Aries, V., J. S.
Crowther, B. S. Drasar,
M. J. Hill
Degradation of bile salts by human
intestinal bacteria
Gut 10, 575-576 (1969)
- Austad, W.J., L. Lack,
M. P. Tyor
Importance of bile acids and of an
intact distal small intestine for
fat absorption
Gastroenterology 52, 638-646 (1967)
- Badley, B. W. D.
Bile Salts
Canad.Med.Ass.J. 102, 159-164 (1970)
- Benthe, H. F.,
M. Göthert, G. von
Klinggräff
Zur negativ inotropen Wirkung von In-
halationsnarkotica und zur Kompensa-
tion dieses Effekts durch Herzglykoside
Anaesthesist 22, 62-68 (1973)
- Bergström, S.,
H. Danielsson
Formation and metabolism of bile
acids in: Handbook of Physiol.,
Sect. 6, Vol. V,
Amer. Physiol. Soc. (Washington)
2391-2407 (1968)
- Biebuyck, J. F.
Effect of anaesthetic agents on meta-
bolic pathways: Fuel utilisation and
supply during anaesthesia
Brit. J. Anaesth. 45, 263-268 (1973)
- Binder, H. J.,
C. L. Rawlins
Effect of conjugated dihydroxy bile
salts on electrolyte Transport in
rat colon
J.Clin.Invest. 52, 1460-1466 (1973)

Bloch, R., H. Menge,
H. Lorenz-Meyer,
E. O. Riecken

Automatisierte segmentale Dünndarm-
perfusion. Eine Methode zur Messung
der intestinalen Resorption
Klin.Wschr. 49, 1218-1222 (1971)

Bloch, R., H. Menge,
H. Lorenz-Meyer,
H. G. Stöckert,
E. O. Riecken

Functional, Biochemical and Morpho-
logical Alterations in the Intestine
of Rats with an Experimental Blind-
Loop Syndrome
Res. exp. Med. 166, 67-78 (1975)

Bonjour, J. P.,
Malvin, R. L.

Stimulation of ADH release by the
renin- angiotensin system
Amer.J.Physiol. 218, 1555-1559 (1970)

Carey, M. C.,
D. M., Small

The Characteristics of mixed micellar
solutions with particular reference
to bile
Am.J.Med. 49, 590-608 (1970)

Danö, P., K. Lenz,
T. Justesen

Bile Acid Metabolism and Intestinal
Bacterial Flora after Three Types of
Intestinal Shunt Operation for Obesity
Scand.J.Gastroent. 9, 767-774 (1974)

Dennhardt, R.,
F. J. Haberich

Resorptions- und Sekretionsstudien
am Darm. V. Einfluß des intralumina-
len Druckes auf die Wasserresorption
am Dünndarm wacher Ratten
Z.ges.exp.Med. 156, 151-156 (1971)

Dennhardt, R.,
F. J. Haberich

Wirkung von ADH auf den Netto- Wasser-
und Elektrolyttransport am Dünndarm
wacher Ratten
Pflügers Arch. 334, 74-84 (1972)

Dennhardt, R.,
F. J. Haberich

Die Wirkung aktiv transportierter
Zucker auf den Natrium-, Kalium- und
Volumentransport am Jejunum und
Ileum der Ratte
Pflügers Arch. 345, 221-236 (1973)

- Dietschy, J. M. Effects of bile salts on intermediate metabolism of intestinal mucosa
Fed.Proc. 26, 1589-1598 (1967)
- Dietschy, J. M. Mechanisms for the intestinal absorption of bile acids
J.Lipid Res. 9, 297-309 (1968)
- Ekwall, P. Studies on Bile Acid Salt Solutions.
I. The Dissoziation Constants of the Cholic and Desoxycholic Acids
Acta chem.scand. 11, 590-598 (1957)
- Fordtran, J. S.,
K. H. Soergel,
F. J. Ingelfinger Intestinal absorption of D- xylose in man
New Engl.J.Med. 267, 274 (1962)
- Fordtran, J. S. Marker perfusion techniques
Gastroenterology 51, 1089-1093 (1966)
- Fordtran J. S. Segmental perfusion techniques
Gastroenterology 56, 987-989 (1969)
- Forth, W., W. Rummel,
H. Glasner Zur resorptionshemmenden Wirkung von Gallensäuren
Naunyn- Schmiedebergs Arch.Pharmak.u. exp. Path. 254, 364-380 (1966)
- Forth, W.,
H. Glasner Zur Resorption freier und konjugierter Gallensäuren im Dünndarm der Ratte in vitro und in vivo
Arch.exp.Path.Pharm. 261, 314-328 (1968)
- Fry, R. J. M.,
E. Staffeldt Effect of a Diet containing Sodium Deoxycholate on the Intestinal Mucosa of the Mouse
Nature 203, 1396-1398 (1964)
- Garbutt, J. T.,
R. M. Wilkins,
L. Lack, M. P. Tyor Bacterial modification of taurocholate during enterohepatic recirculation in normal man and patients with small intestinal disease
Gastroenterology 59, 553-566 (1970)

Garbutt, J. T.,
L. Lack, M. P. Tyor

The Enterohepatic circulation of
Bile Salts in Gastrointestinal
Disorders
Amer.J.Med. 51, 627-636 (1971)

Gelman, S. J.

The effect of enteral oxygen admini-
stration on the hepatic circulation
during halothane anaesthesia: cli-
nical observations
Br.J.Anaesth. 47, 1261-1264 (1975)

Gelman, S. J.

The effect of enteral oxygen admini-
stration on the hepatic circulation
during halothane anaesthesia: ex-
perimental investigations
Br.J.Anaesth. 47, 1253-1259 (1975)

Gracey, M., V. Burke,
A. Oshin, J. Barker,
E. F. Glasgow

Bacteria, bile salts and intestinal
monosaccharide-malabsorption
Gut 12, 683-692 (1971)

Gracey, M.

Intestinal absorption in the contami-
nated small- bowel syndrome
Gut 12, 403-410 (1971)

Gracey, M.,
M. Houghton,
J. Thomas

Deoxycholate depresses small- intestinal
enzyme activity
Gut 16, 33-56 (1975)

Haberich, F. J.,
Herzer, R., Aziz, O.,
Dennhardt, R.

Resorptions- und Sekretionsstudien am
Darm. 1. Mitt.: Technik der extrakor-
poralen Perfusion beliebiger, vorüber-
gehend funktionell isolierter Darm-
abschnitte an der wachen Ratte
Z.ges.exp.Med. 148, 223-237 (1968)

Haberich, F. J.,
R. Herzer, W. Ohm

Resorptions- und Sekretionsstudien am
Darm. II. Die Wasser- und Natrium-
nettoflüsse am Dünndarm der wachen Ratt
bei Perfusion mit verschiedenen konzen-
trierten NaCl- Lösungen
Z.ges.exp.Med. 150, 229-238 (1969)

- Harries, J. T.,
G. E. Sladen
The effects of different bile salts on the absorption of fluid, electrolytes and monosaccharides in the small intestine of the rat in vivo
Gut 13, 596-603 (1972)
- Heaton, K. W.
The importance of keeping bile salts in their place
Gut 10, 857-863 (1969)
- Hempel, V., C. von
Kügelgen, H. Remmer
Der Einfluß flüchtiger Narkosemittel auf den Fremdstoffabbau in der Leber
Anaesthesist 24, 400-403 (1975)
- Herzer, R.,
H. J. Merker,
F. J. Haberich
Resorptions- und Sekretionsstudien am Darm. III. Die Bedeutung der Inter-cellularspalten für den Nettoflüssigkeitstransport am Dünndarm (Rattenversuche)
Z.ges.exp.Med. 150, 239-250 (1969)
- Herzer, R.,
H. J. Merker,
R. Dennhardt,
F. J. Haberich
Resorptions- und Sekretionsstudien am Darm. IV. Die Bedeutung der Inter-cellularspalten für den Nettoflüssigkeits-transport am Dickdarm mit gleichzeitigem Nachweis von ATP-ase (Rattenversuche)
Z.ges.exp.Med. 152, 8-19 (1970)
- Hill, M. J.,
B. S. Drasar
Degradation of bile salts by human intestinal bacteria
Gut 9, 22-27 (1968)
- Hofmann, A. F.
The behaviour and solubility of mono-glycerides in dilute, micellar bile-salt solution
B.B.A. 70, 306-316 (1963)
- Hofmann, A. F.
The function of bile salts in fat absorption
Biochem.J. 89, 57-68 (1963)

- Hofmann, A. F.,
B. Borgström
- The intraluminal phase of fat digestion in man: the lipid content of the micellar and oil phases of intestinal content obtained during fat digestion and absorption
J.Clin.Invest. 43, 247-257 (1964)
- Hofmann, A. F.
- Clinical implications of physico-chemical studies on bile salts
Gastroenterology 48, 484-494 (1965)
- Hofmann, A. F.,
Small, D. M.
- Detergent properties of bile salts: Correlation with physiological functions
Ann.Rev.Med. 18, 333-376 (1967)
- Hofmann, A. F.
- Functions of bile in the alimentary canal. In: Handbook of Physiology, Sect. 6/ Vol. V
Amer.Physiol.Soc.(Washington) (1968)
S. 2507 - 2534
- Holt, P. R.
- Competitive inhibition of intestinal bile salt absorption in the rat
Am.J.Physiol. 210, 635-639 (1966)
- Kennedy, W. F. jr.,
T. K. Sawyer,
H. U. Gerbershagen,
R. E. Cutler, G. D. Allen, J. J. Bonica
- Systemic Cardiovascular and Renal Hemodynamic Alterations during peridural Anaesthesia in Normal Man
Anaesthesiology 31, 414-421 (1969)
- Konder, H.,
R. Dennhardt,
F. J. Haberich
- The effect of unconjugated bile salts on the intestinal absorption of water and electrolytes
Pflügers Arch. 362 Suppl., R 19 (1976)
- Konder, H.,
F. J. Haberich,
H. G. Stöckert
- pH- Values in the small intestine of rats and their possible role in the absorption of bile acids
Pflügers Arch. 368 Suppl., R 20 (1977)

- Low- Beer, T. S.,
R. E. Schneider,
W. O. Dobbins
- Morphological changes of the small
intestinal mucosa of guinea pig and
hamster following incubation in vitro
and perfusion in vivo with unconju-
gated bile salts
Gut 11, 486-492 (1970)
- Mekhijan, H. S.,
Phillips, S. F.
- Perfusion of the canine colon with un-
conjugated bile acids. Effects on water
and electrolyte transport, morphology
and bile acid absorption
Gastroenterology 59, 120-129 (1970)
- Mekhijan, H. S.,
S. F. Phillips,
A. F. Hofmann
- Colonic secretion of water and elektro-
lytes induced by bile acids: perfusion
studies in man
J.Clin.Invest. 50, 1569-1577 (1971)
- Midtvedt, T.,
A. Norman
- Bile acid transformation by microbial
strains belonging to genera found in
intestinal contents
Acta path.et microbiol.scandinav. 71,
629-638 (1967)
- Nell, G.,
W. Forth,
W. Rummel,
R. Wanitschke
- Pathway of Sodium Moving from Blood
to Intestinal Lumen under Influence
of Oxyphenisatin and Deoxycholate in:
Intestinal Ion Transport edited by
J.W.L. Robinson
189-196 MTP Press (London) 1976.
- Parkinson, T. M.,
J. A. Olson
- Inhibitory effects of bile acids on
the uptake, metabolism and transport
of water- soluble substances in the
small intestine of the rat
Life Sciences 6, 393-398 (1963)
- Parkinson, T. M.,
J. A. Olson
- Inhibitory effects of bile acids on adeno-
sine-triphosphatase, oxygen consumption,
and the transport and diffusion of water-
soluble substances in the small intestine
of the rat
Life Sciences 3, 107-112 (1964)

- Parsons, D. S. Methods for investigation of intestinal absorption, in: Handbook of Physiology Sect. 6/ Vol. III
Amer.Physiol.Soc.(Washington) 1968
S. 1176 - 1216
- Pope, J. L.,
T. M. Parkinson,
J. A. Olson Action of bile salts on the metabolism and transport of water-soluble nutrients by perfused rat jejunum in vitro
B.B.A. 130, 218-232 (1966)
- Sachs, L. Angewandte Statistik
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg,
New York (1974)
- Schiff, E. R.,
N. C. Small,
J. M. Dietschy Characterization of the kinetics of the passive and active transport mechanisms for bile acid absorption in the small intestine and colon of the rat
J.Clin.Invest. 51, 1351-1362 (1972)
- Schultz, S. G.,
R. A. Frizell,
H. N. Nellans Ion transport by mammalian small intestine
Ann.Rev.Physiol. 36, 51-89 (1974)
- Sladen, G. E.,
J. T. Harries Studies on the effects of unconjugated dihydroxy bile salts on rat small intestinal function in vivo
B.B.A. 288, 443-456 (1972)
- Small, D. M.,
W. Admirand Solubility of Bile Salts
Nature 221, 265-267 (1969)
- Tabaqchali, S.,
J. Hatzioannou,
C. C. Booth Bile-salt deconjugation and steatorrhea in patients with the stagnant-loop syndrome
Lancet (1968), 12 - 16
- Tabaqchali, S. The Pathophysiological Role of Small Intestinal Bacterial Flora
Scand.J.Gastroent.Suppl.6, 139-163 (1970)

- Teem, M. V.,
S. F. Phillips
Perfusion of the hamster jejunum with
conjugated and unconjugated bile acids:
inhibition of water absorption and ef-
fects on morphology
Gastroenterology 62, 261-267 (1972)
- Tyor, M. P.,
Garbutt, J. T.,
Lack, L.
Metabolism and Transport of Bile Salts
in the Intestine
Am.J.Med. 51, 614-626 (1971)
- Volpe, B. T.,
H. J. Binder
Bile salt alteration of ion transport
across jejunal mucosa
B.B.A. 394, 597-604 (1975)
- Weiner, J. M.,
L. Lack
Bile salt absorption; enterohepatic
circulation, in: Handbook of Physiolo-
gy, Sect. 6, Vol. III
Alimentary Canal
Amer.Physiol.Soc.(Washington) 1968,
1439-1456
- White, P. F.,
R. P. Johnston,
C. R. Pudnill
Interaction of Ketamine and Halothane
in Rats
Anaesthesiology 42, 179-186 (1975)
- Wingate, D. L.,
S. F. Phillips,
A. F. Hofmann
Effect of Glycine- Conjugated Bile
Acids with and without Lecithin on
Water and Glucose Absorption in Per-
fused Human Jejunum
J.Clin.Invest. 52, 1230-1236 (1973)
- Wingate, D. L.
Bile Acids and Bulk Flow, in: Inte-
stinal Ion Transport edited by
J.W.L. Robinson
MTP Press (London), 197-207 (1976)

Herrn Prof. Dr. med. R. Dennhardt möchte ich für die Überlassung des Themas sowie die freundliche Unterstützung und den sachlichen Rat bei der Durchführung der Arbeit danken.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med. F. J. Haberich für seine Unterstützung und die Ermöglichung der Arbeit im Institut für angewandte Physiologie und Herrn Mazzola für die technische Anfertigung der Zeichnungen und methodischen Abbildungen.

LEBENS LAUF

Am 4. Mai 1949 wurde ich als Sohn des Bundesbahnbeamten Herbert Konder und seiner Ehefrau Marianne, geb. Lorth, in Trier geboren.

Von 1955 bis 1958 besuchte ich die Katholische Schenkendorfschule (Volksschule) in Koblenz und von 1958 bis 1959 die Katholische Volksschule, Bachstraße, in Bad Godesberg. Den gymnasialen Zweig der Deutschen Schule in Brüssel besuchte ich ab 1959 und legte dort am 24. 6. 1967 mein Abitur ab.

Mein Studium begann ich im Wintersemester 1967/68 in Gießen und setzte es ab Sommersemester 1968 an der medizinischen Fakultät der Philipps- Universität Marburg, unterbrochen durch ein Urlaubssemester im Sommer 1972, bis zum Staatsexamen am 23. 12. 1974 fort. Die naturwissenschaftliche Vorprüfung legte ich am 1. 10. 1968 und die ärztliche Vorprüfung am 27. 3. 1971 ab. Seit dem 14. 1. 1976 bin ich approbierter Arzt.

Die Vorarbeiten zur vorliegenden Arbeit begannen im Winter 1971 am Institut für angewandte Physiologie, an dem ich vom 1. 11. 1971 bis zum 1. 3. 1974 als wissenschaftliche Hilfskraft ohne Abschluß beschäftigt war. Seit dem 16. 1. 1976 bin ich dort als wissenschaftlicher Angestellter tätig.

Meine akademischen Lehrer waren die Professoren und Dozenten :

in Gießen: von Denffer, Ewald, Fetzner, Hoppe, Kilian, Scharmann, Schwarzacher, Wessing,

in Marburg: Amon, Aurich, Bommer, Braasch, Brück, Buchholz, Daume, Dimroth, Dölle, Engelhardt, Exner, Friederich, Ganz, Golenhofen, Graul, Haberich, Hamelmann, Hamm, Hardewig, Hennesen, Hensel, Heß, Heuser, Hildebrandt, Hort, Jacob, Karlson, Keil, Klaus, Kleinsasser, Koecke, Koransky, Kühnel, Linneweh, Maroske, Martini, Nöth, Nultsch, Oepen, Petry, Pots, Remschmidt, Reim, Rodeck, Rohen, Schleyer, Schmid, Schmitz-Moormann, Seidel, Siegert, Straub, Strohmeier, Thoenes, Uhlarik, Vahilzadeh, Walcher.

